WELTORGANISATION FUR GEISTIGES EIGENTUM Internationales Bûro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 7:

C07K 14/00

A2

WO 00/17233 (11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

(43) Internationales

Veröffentlichungsdatum:

30. März 2000 (30.03.00)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP99/07055

(22) Internationales Anmeldedatum:

22. September 1999

(22.09.99)

(30) Prioritätsdaten:

198 43 279.8 199 23 567.8

22. September 1998 (22.09.98) DE

21. Mai 1999 (21.05.99)

DE

(71)(72) Anmelder und Erfinder: JOMAA, Hassan [DE/DE]; Breslauer Strasse 24, D-35398 Gießen (DE).

(74) Anwälte: PANTEN, Kirsten usw.; Reichel und Reichel, Parkstrasse 13, D-60322 Frankfurt am Main (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht

Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

(54) Title: GENES OF THE 1-DESOXY-D-XYLULOSE BIOSYNTHETIC PATHWAY

(54) Bezeichnung: GENE DES 1-DESOXY-D-XYLULOSE-BIOSYNTHESEWEGS

(57) Abstract

The invention relates to the 1-desoxy- D-xylulose- 5-phosphate reductoisomerase gene, the 1-desoxy- D-xylulose- 5-phosphatesynthase gene and the gcpE gene of the 1-desoxy- D-xylulose biosynthetic pathway and to their use for transforming vectors, host organisms and plants and for determining substances that inhibit this biosynthetic pathway.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft das 1-Desoxy- D-xylulose- 5-phosphatreduktoisomerase -Gen, das 1-Desoxy- D-xylulose-5-phosphat- Synthase- Gen und das gcpE-Gen des 1-Desoxy- D-xylulose- Biosynthesewegs und ihre Verwendung zur Transformation von Vektoren, Wirtsorganismen und Pflanzen und zur Bestimmung von Stoffen, die diesen Biosyntheseweg inhibieren.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

	AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	, SI	Slowenien
	AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litanen	SK	Slowakei
i	AT	Osterreich	FR	Frankreich	w	Luxenburg	SN	Senegal
	AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
	AZ	Ascrbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Techad
ĺ	BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
	BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
	BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische	TM .	Turkmenistan
	BF	Burkina Faso	GR	Griechenland		Republik Mazedonien	TR	Türkei
	BG	Bulgarien	HŲ	Ungam	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
	BJ	Benin ·	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
	BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
	BY	Belarus	is	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von
	CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko .	•	Amerika
	CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
l	CC	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Victnam
ĺ	CH	Schweiz	KG	Kirgisisten	NO	Norwegen	· YU	Jugoslawien
	_	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik	NZ	Neusceland	ZW	Zimbabwe
l	CI CM	Kamenin	R.F	Korea	PL	Polen		
1		China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
	CN		KZ	Kasachstan	RO	Ruminien .		•
1	CU CT	Kuba Taskashisaha Basublik	ic	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
l	CZ	Tschechische Republik	u	Liechtenstein	SD	Sudan		
١	DE	Deutschland Deutschland		Sri Lanka	SE	Schweden		
	DK	Danemark Entered	LK	Liberia	SG	Singapur		
	EB	Extland	LR	LUCIU.	50			
L					•			

Gene des 1-Desoxy-D-xylulose-Biosynthesewegs

Die vorliegende Erfindung betrifft DNA-Sequenzen, die bei Integration in das Genom von Viren, Eukaryonten und Prokaryonten die Isoprenoid-Biosynthese verändern sowie gentechnologische Verfahren zur Herstellung dieser transgenen Viren, Eukaryonten und Prokaryonten. Außerdem betrifft sie Verfahren zur Identifiziereung von Stoffen mit herbizider, antimikrobieller, antiparasitärer, antiviraler, fungizider, bakterizider Wirkung bei Pflanzen und antimikrobieller, antiparasitärer, antimykotischer, antibakterieller und antiviraler Wirkung bei Mensch und Tier.

Der Biosyntheseweg zur Bildung von Isoprenoiden über den klassischen Acetat/ Mevalonat-Weg und einen alternativen, Mevalonat-unabhängigen Biosyntheseweg, den Desoxy-D-xylulose-Phosphat-Weg, ist bereits bekannt (Rohmer, M., Knani, M., Simonin, P., Sutter, B., and Sahm, H. (1993): Biochem. J. 295: 517-524).

Es ist aber nicht bekannt, wie und über welche Wege in Viren, Eukaryonten und Prokaryonten eine Änderung der Isoprenoidkonzentration über den Desoxy-D-xylulose-Phoshat-Weg erreicht werden kann. In Fig. 1 ist dieser Biosyntheseweg dargestellt.

Es werden daher DNA-Sequenzen zur Verfügung gestellt, die für die 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat-Synthase (DOXP-Synthase),: 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatreduktoisomerase(DOXP-Reduktoisomerase) oder das gcpE-Protein kodieren. Alle drei Gene und Enzyme sind an der Isoprenoid-Biosynthese beteiligt.

Das gcpE-Protein hat eine Kinasefunktion und katalysiert die Phosphorylierung eines Zuckers oder eines Phosphorzuckers oder einer Vorstufe der Isoprenoidbiosynthese, insbesondere die Phosphorylierung von 2-C-Methyl-D-erythritol, 2-C-Methyl-D-erythritol-4-erythritol-phosphat, insbesondere 2-C-Methyl-D-erythritol-4-phosphat, 2-C-Methyl-D-erythrose, 2-C-Methyl-D-erythrose-

PCT/EP99/07055 WO 00/17233 -2-

phosphat, insbesondere 2-C-Methyl-D-erythrose-4-phosphat. In der Vorstufe der Isoprenoidsynthese katalysiert das gcpE-Protein insbesondere die Phosphorylierung der folgenden Substanzen:

 $\begin{array}{l} \text{CH}_2\left(\text{OH}\right) - \text{C}\left(\text{CH}_3\right) = \text{C}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{PO}\left(\text{OH}\right)_2, \quad \text{CH}_2\left(\text{OH}\right) - \text{C}\left(\text{CH}_3\right) = \text{C}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{OH}, \\ \text{CH}_2\left(\text{OH}\right) - \text{CH}\left(\text{CH}_3\right) - \text{CO} - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{PO}\left(\text{OH}\right)_2, \quad \text{CH}_2\left(\text{OH}\right) - \text{CH}\left(\text{CH}_3\right) - \text{CO} - \text{CH}_2 - \text{OH} \\ \text{CH}_2 = \text{C}\left(\text{CH}_3\right) - \text{CO} - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{PO}\left(\text{OH}\right)_2, \quad \text{CH}_2 = \text{C}\left(\text{CH}_3\right) - \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{OH}, \\ \text{CH}_2 = \text{C}\left(\text{CH}_3\right) - \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{PO}\left(\text{OH}\right)_2, \quad \text{CH}_2 = \text{C}\left(\text{CH}_3\right) - \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{OH}, \\ \text{CH}_2\left(\text{OH}\right) - \text{C}\left(\text{CH}_2\right) - \text{C}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{PO}\left(\text{OH}\right)_2, \quad \text{CHO} - \text{CH}\left(\text{CH}_3\right) - \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{OH}, \\ \text{CHO} - \text{CH}\left(\text{CH}_3\right) - \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{PO}\left(\text{OH}\right)_2, \quad \text{CH}_2\left(\text{OH}\right) - \text{C}\left(\text{OH}\right) \left(\text{CH}_3\right) - \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{OH}, \\ \text{CH}\left(\text{OH}\right) = \text{C}\left(\text{CH}_3\right) - \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{PO}\left(\text{OH}\right)_2, \quad \text{CH}\left(\text{OH}\right) = \text{C}\left(\text{CH}_3\right) - \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{OH}, \\ \text{CH}_3\right) = \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{PO}\left(\text{OH}\right)_2, \quad \text{CH}_3\right) = \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{OH}, \\ \text{CH}_3\right) = \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{PO}\left(\text{OH}\right)_2, \quad \text{CH}_3\right) = \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{OH}, \\ \text{CH}_3\right) = \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{PO}\left(\text{OH}\right)_2, \quad \text{CH}_3\right) = \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{OH}, \\ \text{CH}_3\right) = \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{PO}\left(\text{OH}\right)_2, \quad \text{CH}_3\right) = \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{OH}, \\ \text{CH}_3\right) = \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{PO}\left(\text{OH}\right)_2, \quad \text{CH}_3\right) = \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{OH}, \\ \text{CH}_3\right) = \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{PO}\left(\text{OH}\right)_2, \quad \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{OH}, \\ \text{CH}_3\right) = \text{CH}\left(\text{CH}_3\right) - \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{PO}\left(\text{OH}\right)_2, \quad \text{CH}\left(\text{OH}\right) - \text{CH}_2 - \text{OH}, \\ \text{CH}_3\right) = \text{CH}\left(\text{CH}_3\right) - \text{CH}\left(\text{C$

Die DOXP-Synthase katalysiert die Kondensation von Pyruvat und Glyceraldehyd-3-phosphat zu 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphat und die DOXP-Reduktoisomerase katalysiert die Umwandlung von 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphat zu 2-C-Methyl-D-erythritol-4-phosphat. (siehe Fig. 1).

Die Erfindung betrifft die folgenden DNA-Sequenzen:
DNA-Sequenzen, die für ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO:2
dargestellten Aminosäuresequenz codieren oder für ein Analoges
oder Derivat des Polypeptids gemäß SEQ ID NO:2, worin eine oder
mehrere Aminosäuren deletiert, hinzugefügt oder durch andere
Aminosäuren substituiert worden sind,

DNA-Sequenzen, die für ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO:4 dargestellten Aminosäuresequenz codieren oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids gemäß SEQ ID NO:4, worin eine oder mehrere Aminosäuren deletiert, hinzugefügt oder durch andere Aminosäuren substituiert worden sind,

sowie DNA-Sequenzen, die für ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO: 6 dargestellten Aminosäuresequenz codieren oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids gemäß SEQ ID NO: 6, worin eine oder mehrere Aminosäuren deletiert, hinzugefügt oder durch andere Aminosäuren substituiert worden sind.

Die Gene und ihre Genprodukte (Polypeptide) sind im Sequenzprotokoll mit ihrer Primärstruktur aufgeführt und haben folgende Zuordnung:

SEQ ID NO:1: 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatreduktoisomerase-Gen

SEQ ID NO:2: 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatreduktoisomerase

SEQ ID NO:3: 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat-Synthase-Gen

SEQ ID NO:4: 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat-Synthase

SEQ ID NO:5: gcpE-Gen

SEQ ID NO:6 : gcpE-Proteine.

Die DNA-Sequenzen stammen alle aus Plasmodium falciparum.

Außer den im Sequenzprotokoll genannten DNA-Sequenzen sind auch solche geeignet, die infolge der Degeneration des genetischen Codes eine andere DNA-Sequenz besitzen, jedoch für das gleiche Polypeptid oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids kodieren, worin eine oder mehrere Aminosäuren deletiert, hinzugefügt oder durch andere Aminosäuren substituiert worden sind.

Die erfindungsgemäßen Sequenzen eignen sich für die Expression von Genen in Viren, Eukaryonten und Prokaryonten, die für die Isoprenoid-Biosynthese des 1-Desoxy-D-xylulose-Wegs verantwortlich sind.

Erfindungsgemäß gehören zu den Eukaryonten oder eukaryontischen Zellen tierischen Zellen, Pflanzenzellen, Algen, Hefen, Pilze und zu den Prokaryonten oder prokaryontischen Bakterien Archaebakterien und Eubakterien.

Bei Integration einer DNA-Sequenz in ein Genom, auf der eine der oben angegebenen DNA-Sequenzen lokalisiert ist, wird die Expression der oben beschriebenen Gene in Viren, Eukaryonten und Prokaryonten ermöglicht. Die erfindungsgemäß transformierten Viren, Eukaryonten und Prokaryonten werden in an sich bekannter Weise gezüchtet und das währenddessen gebildete Isoprenoid isoliert und gegebenenfalls gereinigt. Nicht alle Isoprenoide müssen isoliert werden, da die Isoprenoide in einigen Fällen direkt in die Raumluft abgegeben werden.

Die Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Herstellung von transgenen Viren, Eukaryonten und Prokaryonten zur Veränderung des Isoprenoid-Gehaltes, das die folgenden Schritte enthält.

- a) Herstellung einer DNA-Sequenz mit folgenden Teilsequenzen
 - i) Promotor, der in Viren, Eukaryonten und Prokaryonten aktiv ist und die Bildung einer RNA im vorgesehenen Zielgewebe oder den Zielzellen sicherstellt,
 - ii) DNA-Sequenz, die für ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO:2,4 oder 6 dargestellten Aminosäuresequenz codieren oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids gemäß SEQ ID NO:2,4 oder 6,
 - iii) 5'- und 3'-nichttranslatierte Sequenz, die in Viren, Eukaryonten und Prokaryonten die Expression der bezeichneten Gene ermöglichen oder verbessern,
 - b) Transfer und Einbau der DNA-Sequenz in das Genom von Viren, prokaryontischen oder eukaryontischen Zellen mit oder ohne Verwendung eines Vektors (z.B. Plasmid, virale DNA).

Aus derart transformierten Pflanzenzellen können die intakten ganzen Pflanzen regeneriert werden.

Die für die Proteine kodierenden Sequenzen mit den Nukleotidabfolgen Seq ID NO:1, Seq ID NO:3 und Seq ID NO: 5 können mit einem die Transkription in bestimmten Organen oder Zellen sicherstellenden Promotor versehen werden, der in sense-Orientierung (3'-Ende des Promotors zum 5'-Ende der kodierenden Sequenz) an die Sequenz, die das zu bildende Protein kodiert, gekoppelt ist. An das 3'-Ende der kodierenden Sequenz wird ein die Termination der mRNA-Synthese bestimmendes Terminationssignal angehängt. Um das zu exprimierende Protein in bestimmte subzelluläre Kompartimente, wie Chloroplasten, Amyloplasten, Mitochondrien, Vakuole, Cytosol oder Interzellularräume zu dirigieren, kann zwischen den Promotor und die kodierende Sequenz noch eine für eine sogenannte Signalsequenz oder ein Transitpeptid kodierende Sequenz gesetzt werden. In einigen Fällen ist es erforderlich, Sequenzen einzufügen, die für eine Signalsequenz am COOH-Terminus des Proteins kodieren. Die Sequenz muß im gleichen Leserahmen wie die kodierende Sequenz des Proteins sein. Zur Vorbereitung der Einführung der erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen in höhere Pflanzen sind eine große Anzahl von Klonierungsvektoren verfügbar, die ein Replikationssignal für E.coli und einen Marker beinhalten, der eine Selektion der transformierten Zellen erlaubt. Je nach Einführungsmethode gewünschter Gene in die Pflanze können weitere DNA-Sequenzen erforderlich sein. Werden zum Beispiel für die Transformation der Pflanzenzelle das Ti- oder Ri-Plasmid verwendet, so muß mindestens eine rechte Begrenzung, häufig jedoch die rechte und die linke Begrenzung der Ti- und Ri-Plasmid T-DNA als Flankenbereich den einzuführenden Genen eingefügt werden. Die Verwendung von T-DNA für die Transformation von Pflanzenzellen ist intensiv untersucht und ausreichend in EP 120516; Hoekama, in: The Binary Plant Vector System, Offset-drukkerij Kanters B.V. Alblasserdam (1985), Chapter V; Fraley et al., Crit.Rev.Plant Sci. 4,1-46 und An et al. (1985) EMBO J. 4, 277-287 beschrieben worden. Ist die eingeführte DNA einmal im Genom integriert, so ist sie in der Regel stabil und bleibt auch in den Nachkommen der ursprünglich transformierten Zellen erhalten. Sie erhält normalerweise einen Selektionsmarker, der den transformierten Pflanzenzellen Resistenz gegenüber einem Biozid oder einem Antibiotikum, wie Kanamycin, G 418, Bleomycin, Hygromycin oder Phosphinotricin u.a. vermittelt. Der individuell verwendete Marker sollte daher die Selektion transformierter Zellen gegenüber Zellen, denen die eingefügte DNA fehlt, gestatten.

Für die Einführung von DNA in eine Pflanze stehen viele Techniken zur Verfügung. Diese Techniken umfassen die Transformation mit Hilfe von Agrobakterien, z.B. Agrobacterium tumefaciens, die Fusion von Protoplasten, die Mikroinjektion von DNA, die Elekroporation, sowie ballistische Methoden und die Virusinfektion. Aus dem transformierten Pflanzenmaterial können dann im geeigneten Medium, welches Antibiotika oder Biozide zur Selektion enthalten kann, wieder ganze Pflanzen regeneriert werden. Bei der Injektion und Elektroporation sind an sich keine speziellen Anforderungen an die Plasmide gestellt. Sollen aber aus derartig transformierten Zellen ganze Pflanzen regeneriert werden, ist die Anwesenheit eines selektierbaren Markergens not-

wendig. Die transformierten Zellen wachsen innerhalb der Pflanzen in der üblichen Weise (McCormick et al. (1986), Plant Cell Reports 5, 81-84). Die Pflanzen können normal angezogen werden und mit Pflanzen, die die gleiche transformierte Erbanlage oder andere Erbanlagen haben, gekreuzt werden. Die daraus entstehenden Individuen haben die entsprechenden phänotypischen Eigenschaften.

Weiterhin sind Gegenstand der Erfindung Expressionsvektoren, die eine oder mehrere der erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen enthalten. Solche Expressionsvektoren erhält man, indem man die erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen mit geeigneten funktionellen Regulationssignalen versieht. Solche Regulationssignale sind DNA-Sequenzen, die für die Expression verantwortlich sind, beispielsweise Promotoren, Operatoren, Enhancer, ribosomale Bindungsstellen, und die vom Wirtsorganismus erkannt werden.

Gegebenenfalls können noch weitere Regulationssignale, die beispielsweise Replikation oder Rekombination der rekombinanten DNA im Wirtsorganismus steuern, Bestandteil des Expressionsvektors sein.

Ebenso gehören die mit den erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen oder Expressionsvektoren transformierten Wirtsorganismen zum Gegenstand der Erfindung.

Für die Expression der erfindungsgemäßen Enzyme eignen sich besonders solche Wirtszellen und Organismen, die keine intrinsischen Enzyme mit der Funktion der DOXP-Synthase, der DOXP-Reduktoisomerase oder des gcpE-Proteins aufweisen. Dies trifft für Archaebacterien, Tiere, Pilze, Schleimpilze und einige Eubakterien zu. Durch das Fehlen dieser intrinsischen Enzymaktivitäten wird die Detektion und Aufreinigung der rekombinanten Enzyme wesentlich erleichtert. Auch wird es erst dadurch möglich, mit geringem Aufwand die Aktivität und insbesondere die Hemmung der Aktivität der erfindungsgemäßen rekombinanten Enzyme durch verschiedenen Chemikalien und Pharmaka in Rohextrakten aus den Wirtszellen zu messen.

WO 00/17233 -7-

Die Expression der erfindungsgemäßen Enzyme erfolgt vorteilhafterweise dann in eukaryontischen Zellen, wenn posttranslatorische Modifikationen und eine native Faltung der Polypeptidkette erreicht werden soll. Außerdem wird in Abhängigkeit vom Expressionssystem bei der Expression genomischer DNA-Sequenzen erreicht, daß Introns durch Spleißen der DNA beseitigt und die Enzyme in der für die Parasiten charakteristischen Polypeptidsequenz produziert werden. Für Introns codierende Sequenzen können auch durch rekombinante DNA-Technologie aus den zu exprimierenden DNA-Sequenzen beseitigt oder experimentell eingefügt werden.

Die Isolierung des Proteins kann aus der Wirtszelle oder dem Kulturüberstand der Wirtszelle nach dem Fachmann bekannten Verfahren erfolgen. Es kann auch eine in vitro Reaktivierung der Enzyme erforderlich sein.

Zur Erleichterung der Aufreinigung können die erfindungsgemäßen Enzyme oder Teilsequenzen der Enzyme als Fusionsprotein mit verschiedenen Peptidketten exprimiert werden. Dazu eigenen sich besonders Oligo-Histidin-Sequenzen und Sequenzen, die von der Glutathion-S-Transferase, Thioredoxin oder Calmodulin-bindenden Peptiden abgeleitet sind.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Enzyme oder Teilsequenzen der Enzyme als Fusionsprotein mit solchen, dem Fachmann bekannten, Peptidketten exprimiert werden, daß die rekombinanten Enzyme in das extrazelluläre Millieu oder in bestimmte Kompartimente der Wirtszellen transportiert werden. Dadurch kann sowohl die Aufreinigung, als auch die Untersuchung der biologischen Aktivität der Enzyme erleichtert werden.

Bei der Expression der erfindungsgemäßen Enzyme kann es sich als zweckmäßig erweisen, einzelne Codone zu verändern. Dabei

ist der gezielte Austausch von Basen in der kodierenden Region auch sinnvoll, wenn die genutzten Codone in den Parasiten abweichend sind von der Codonnutzung im heterologen Expressionssystem, um eine optimale Synthese des Proteins zu gewährleisten.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Enzyme unter standardisierten Bedingungen durch dem Fachmann bekannte Techniken durch in vitro-Translation gewonnen werden. Dafür geeignete Systeme sind Kaninchen-Reticulozyten- und Weizenkeimextrakte und Bakterienlysate. Auch kann in vitro transskribierte mRNA in Xenopus-Oocyten translatiert werden.

Durch chemische Synthese können Oligo- und Polypeptide hergestellt werden, deren Sequenzen aus der Peptidsequenz der erfindungsgemäßen Enzyme abgeleitet sind. Bei geeigneter Wahl der Sequenzen besitzen derartige Peptide Eigenschaften, die für die erfindungsgemäßen Enzyme charakteristisch sind. Derartige Peptide können in großen Mengen hergestellt werden und eignen sich besonders für Studien über die Kinetik der Enzymaktivität, die Regulation der Enzymaktivität, die dreidimensionale Struktur der Enzyme, die Hemmung der Enzymaktivität durch verschiedenen Chemikalien und Pharmaka und die Bindungsgeometrie und Bindugnsaffinität verschiedener Liganden.

Vorzugsweise wird zur rekombinanten Herstellung der erfindungsgemäßen Enzyme eine DNA mit den Nukleotiden aus den Sequenzen SEQ ID NO: 1, 3 und 5 verwendet.

Die Erfindung umfaßt daher außerdem ein Verfahren zum Screening nach Verbindungen, die desDesoxy-D-xylulose-Phosphat-Stoffwechselweg inhibieren. Gemäß diesem Verfahren wird ein Wirtsorganismus, der einen rekombinanten Expressionsvektor enthält, wobei der Vektor zumindest einen Teil der Olignukleotidsequenz gemäß SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 3 oder SEQ ID NO: 5 oder Varianten oder Homologe dieser aufweist, und außerdem eine

Verbindung, von der vermutet wird, daß sie eine antimikrobielle, antiparasitäre, antibakterielle, antivirale und antimykotische Wirkung bei Mensch und Tier oder eine antimikrobielle, antivirale, bakterizide, herbizide oder fungizide Wirkung bei
Pflanzen hat, bereitgestellt. Anschließend wird der Wirtsorganismus mit der Verbindung in Kontakt gebracht und die Wirksamkeit der Verbindung bestimmt.

Ein weiterer Gegenstand dieser Erfindung sind Methoden zur Bestimmung der enzymatische Aktivität des gcpE-Proteins. Diese kann nach bekannten Verfahren bestimmt werden. Hierbei wird die Phosphorylierung eines Zuckers oder eines Phosphorzuckers oder einer Vorstufe der Isoprenoidbiosynthese, insbesondere die Phosphorylierung von 2-C-Methyl-D-erythritol, 2-C-Methyl-D-erythritol-phosphat, insbesondere 2-C-Methyl-D-erythritol-4-phosphat, 2-C-Methyl-D-erythrose, 2-C-Methyl-D-erythrose-phosphat, insbesondere 2-C-Methyl-D-erythrose-4-phosphat, detektiert. Ein weiterer Gegenstand dieser Erfindung ist die Verwendung dieser Meßverfahren zur Ermittlung von Stoffen, die die Aktivität der jeweiligen Enzyme inhibieren.

Die enzymatische Aktivität von DOXP-Synthase und DOXP-Reduktisomerase kann in einem einzigen Schitt detektiert werden, indem die Umwandlung von Glycerinaldehyd-3-phosphat zu 2-C-Methylerythritol-4-phosphat bestimmt wird.

Analog erfolgt die Bestimmung der Aktivitäten von DOXP-Synthase und DOXP-Reduktoisomerase. Für die Bestimmung der DOXP-Synthase-Aktivität eignen sich auch fluorimetrische Verfahren, wie von Querol et al. beschrieben (Querol et al. Abstracts 4th european symposium on plant isoprenoids, Barcelona 21-23 April 1999).

Patentansprüche

- DNA-Sequenzen, die für ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO: 2 dargestellten Aminosäuresequenz codieren oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids gemäß SEQ ID NO:2, worin eine oder mehrere Aminosäuren deletiert, hinzugefügt oder durch andere Aminosäuren substituiert worden sind.
- 2. DNA-Sequenzen, die für ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO: 4 dargestellten Aminosäuresequenz codieren oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids gemäß SEQ ID NO:4, worin eine oder mehrere Aminosäuren deletiert, hinzugefügt oder durch andere Aminosäuren substituiert worden sind.
- 3. DNA-Sequenzen, die für ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO: 6 dargestellten Aminosäuresequenz codieren oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids gemäß SEQ ID NO: 6, worin eine oder mehrere Aminosäuren deletiert, hinzugefügt oder durch andere Aminosäuren substituiert worden sind.
- 4. DNA-Sequenz gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß sie außerdem funktionelle Regulationssignale, insbesondere Promotoren, Operatoren, Enhancer, ribosomale Bindungsstellen, aufweist.
- 5. DNA-Sequenz mit folgenden Teilsequenzen
 - i) Promotor, der in Viren, Eukaryonten und Prokaryonten aktiv ist und die Bildung einer RNA im vorgesehenen Zielgewebe oder den Zielzellen sicherstellt,
 - ii) DNA-Sequenzen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3,
 - iii) 3'-nichttranslatierte Sequenz, die in Viren, Eukaryonten und Prokaryonten zur Addition von Poly-A Resten an das 3'-Ende der RNA führt.
- 6. Verfahren zur Herstellung von transgenen Viren, Eukaryonten und Prokaryonten zur Veränderung des Isoprenoid-Gehaltes, dadurch gekennzeichnet, daß eine DNA-Sequenz gemäß Anspruch 4 oder 5 in das Genom von Viren, eukaryontischen und proka-

- ryontischen Zellen mit oder ohne Verwendung eines Vektors transferiert und eingebaut wird.
- 7. Transgene Systeme, insbesondere Pflanzen und Pflanzenzellen, welche ein oder mehrere DNA-Sequenzen gemäß der Ansprüche 1 bis 5 als "fremde" oder "zusätzliche" DNA enthalten, die exprimiert werden.
- 8. Expressionsvektor, enthaltend eine oder mehrere DNA-Sequenzen gemäß Anspruch 1 bis 5.
- 9. Protein, welches am 1-Deoxy-D-Xylulose-5-PhosphatStoffwechselweges beteiligt ist und a) codiert wird von den
 DNA-Sequenzen SEQ ID NO: 1,3 oder 5 oder b) codiert wird
 von DNA-Sequenzen, die mit den DNA-Sequenzen SEQ ID NO:
 1,3,5 oder Fragmenten dieser DNA-Sequenzen im DNA-Bereich,
 der für das reife Protein codiert, hybridisieren.
- 10. Protein nach den Anspruch 9, erhältlich aus den Kulturüberständen von Parasiten oder aus den aufgeschlossenen Parasiten und Aufreinigung über chromatographische und elektrophoretische Techniken.
- 11. Protein nach einem der Ansprüche 9 und 10, dadurch gekennzeichnet, daß es a) das Produkt einer viralen, prokaryontischen oder eukaryontischen Expression einer exogenen DNA ist, b) codiert wird von den Sequenzen SEQ ID NO: 1, 3 oder 5 oder codiert wird von DNA-Sequenzen, die mit den in den DNA-Sequenzen SEQ ID NO: 1, 3 oder 5 oder Fragmenten dieser DNA-Sequenzen im DNA-Bereich, der für das reife Protein kodiert, hybridisieren, oder c) codiert wird von DNA-Sequenzen, die ohne Degeneration des genetischen Codes mit den in b) definierten Sequenzen hybridisieren würden und für ein Polypeptid mit entsprechender Aminosäure-Sequenz kodieren.

- 12. Protein gemäß einem der vorangehenden Ansprüchen, dadurch gekennzeichnet, daß es die Aminosäuresequenzen SEQ ID NO: 2, 4 oder 6 aufweist.
- 13. Verfahren zur Bestimmung der enzymatischen Aktivität des gcpE-Proteins, dadurch gekennzeichnet, daß Phosphorylierung eines Zuckers oder eines Phosphorzuckers oder einer Vorstufe der Isoprenoidbiosynthese, insbesondere die Phosphorylierung von 2-C-Methyl-D-erythritol, 2-C-Methyl-D-erythritol-erythritol-phosphat, insbesondere 2-C-Methyl-D-erythritol-4-phosphat, 2-C-Methyl-D-erythrose, 2-C-Methyl-D-erythrosephosphat, insbesondere 2-C-Methyl-D-erythrose-4-phosphat, und der Phosphat- und Alkoholvorstufen, detektiert wird.
- 14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Phosphorylierung der folgenden Phosphate oder Alkohole detektiert wird:

 $CH_2(OH) - C(CH_3) = C(OH) - CH_2 - O - PO(OH)_2$

 $CH_2 (OH) - C (CH_3) = C (OH) - CH_2 - OH$,

 CH_{2} (OH) -CH (CH₃) -CO-CH₂-O-PO (OH)₂, CH_{2} (OH) -CH (CH₃) -CO-CH₂-OH

 $CH_2=C(CH_3)-CO-CH_2-O-PO(OH)_2$, $CH_2=C(CH_3)-CO-CH_2-OH$,

 $CH_2=C(CH_3)-CH(OH)-CH_2-O-PO(OH)_2$, $CH_2=C(CH_3)-CH(OH)-CH_2-OH$,

 $CH_2 (OH) - C (=CH_2) - C (OH) - CH_2 - O - PO (OH)_2$

 $CH_2(OH) - C(=CH_2) - C(OH) - CH_2 - OH$

CHO-CH (CH₃)-CH (OH)-CH₂-O-PO (OH)₂, CHO-CH (CH₃)-CH (OH)-CH₂-OH,

 $CH_2(OH) - C(OH)(CH_3) - CH = CH - O - PO(OH)_2$

 CH_2 (OH) -C (OH) (CH₃) -CH=CH-OH

 $CH(OH) = C(CH_3) - CH(OH) - CH_2 - O - PO(OH)_2$

 $CH(OH) = C(CH_3) - CH(OH) - CH_2 - OH$

 $(CH_3)_2HC-CO-CH_2-O-PO(OH)_2$,

 $(CH_3)_2HC-CO-CH_2-O-H$,

 $(CH_3)_2HC-CH(OH)-CH_2-O-PO(OH)_2$,

 $(CH_3)_2HC-CH(OH)-CH_2-O-H.$

15. Verfahren zur gekoppelten Bestimmung der enzymatischen Aktivität der DOXP-Synthase und der DOXP-Reduktase, dadurch gekennzeichnet, daß die Umwandlung von Glycerinaldehyd-3-phosphat zu 2-C-Methylerythritol-4-phosphat detektiert wird.

- 16. Verfahren zum Screening einer Verbindung für die Therapie von infektiösen Prozessen bei Mensch und Tier, wobei das Verfahren umfaßt:
 - a) Bereitstellen einer Wirtszelle, die einen rekombinanten Expressionsvektor enthält, wobei der Vektor zumindest einen Teil der Olignukleotidsequenz gemäß SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 3 oder SEQ ID NO: 5 oder Varianten oder Analoga dieser aufweist, und außerdem eine Verbindung, von der vermutet wird, daß sie eine antimykotische, antibiotische, antiparasitäre oder antivirale Wirkung bei Mensch und Tier hat,
 - b) In-Kontakt-Bringen der Wirtszelle mit der Verbindung und
 - c) Bestimmung der antimikrobiellen, antimykotischen, antibiotischen, antiparasitären oder antiviralen Wirksamkeit der Verbindung.
- 17. Verfahren zum Screening nach Verbindungen zur Behandlung von Pflanzen, wobei das Verfahren umfaßt:
 - a) Bereitstellen einer Wirtszelle, die einen rekombinanten Expressionsvektor enthält, wobei der Vektor zumindest einen Teil der Olignukleotidsequenz gemäß SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 3 oder SEQ ID NO: 5 oder Varianten oder Analoga dieser aufweist, und außerdem eine Verbindung, von der vermutet wird, daß sie eine antimikrobielle, antivirale, antiparasitäre, bakterizide, fungizide oder herbizide Wirkung bei Pflanzen hat,
 - b) In-Kontakt-Bringen der Wirtszelle mit der Verbindung und
 - c) Bestimmung der antimikrobiellen, antiviralen, antiparasitären, bakteriziden, fungiziden oder herbiziden Wirksamkeit der Verbindung.
- 18. Verwendung von DNA nach einem der Ansprüche 1 bis 5 oder von Proteinen nach einem der Ansprüche 9 bis 12 oder von transgenen Systemen nach Ansprüch 7 zur Vorbeugung oder Therapie von Erkrankungen bei Mensch und Tier.

```
<110> Jomaa, Hassan
<120> Gene des 1-Desoxy-D-xylulose-Biosynthesewegs
<130> 15696
<140> PCT/EP99
<141> 1999-09-22
<:50> DE19923567.8
<151> 1999-05-22
<150> DE19843279.8
<151> 1998-09-22
<160> 6
<170> PatentIn Ver. 2.1
 <210> 1
 <211> 1467
<212> DNA
 <213> Plasmodium falciparum
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1467)
 <220>
 <221> gene
<222> (1)..(1467)
 <220>
 <221> mRNA
 <222> (1)..(1467)
 <400> 1
                                                           48
 Met Lys Lys Tyr Ile Tyr Ile Tyr Phe Phe Phe Ile Thr Ile
                                                   15
                                  10
```

aat	gat	tta	gta	aţa	aat	aat	aca	tca	aaa	tġt	gtt	tcc	att	gaa	aga	96
Asn	Asp	Leu	Val	Ile	Asn	Asn	Thr	Ser	Lys	Cys	Val	Ser	Ile	Gľu	Arg	
			20					25					30			
•	•													•		
aga	aaa	aat	aac	gca	tat	ata	aat	tat	ggt	ata	gga	tat	aat	gga	cca	144
Arg	Lys	Asn	Asn	Ala	Tyr	Ile	Asn	Tyr	Gly	Ile	Gly	Tyr	Asn	Gly	Pro	
		35					40					45				•
							•									
gat	aat	aaa	ata	aca	aag	agt	aga	aga	tgt	aaa	aga	ata	aag	tta	tgc	192
			Ile													
	50	_				_55		•			60					•
												-				
aaa	aag	gat	tta	ata	gat	att	ggt	gca	ata	aag	aaa	cca	att	aat	gta	240
			Leu													
65					70	٠				75					80	
gca	att	ttt	gga	agt	act	ggt	agt	ata	ggt	acg	aat	gct	tta	aat	ata	288
			Gly													
•				85					90					95		
ata	agg	gag	tgt	aat	aaa	att	gaa	aat	gtt	ttt	aat	gtt	aaa	gca	ttg	336
			Cys													
			100	• •				105					110		•	
tat	gtg	aat	aag	agt	gtg	aat	gaa	tta	tat	gaa	caa	gct	aga	gaa	ttt	384
			. Lys													
		115	5				120)				125				
	•								٠.							
tta	cça	gaa	a tat	ttç	, tgt	ata	cat	gat	aaa	agt	gta	tat	gaa	gaa	tta	432
Leu	Pro	Glu	ı Tyr	Leu	ı Cys	Ile	His	Asp	Lys	Şer	Val	Tyr	Glu	Glu	Leu	٠,
	130)				135	•				140					
aaa	a gaa	cte	g gta	a aaa	a aat	ata	aaa	gat	-tat	aaa	cct	ata	ata	ttg	tgt	480
			ı Val				•									
145					150					155					160	
									•							
ggt	t gat	t gaa	a gg	g ato	g aaa	a gaa	ata	tgt	agt	agt	aat	agt	ata	gat	aaa	528
			u Gl													
	•		•	16					170					175		
ata	a ati	t at	t aai	t at	t gat	tct	tt	: caa	a gga	tta	tat	tct	act	atg	tat	576

Ile	Val	I		Gly 180	Ile	Asp	Ser	Phe	Gln 185	Gly	Leu	Tyr	Ser	Thr 190		Tyr	
gca Ala	att	: M	let	aat Asn	aat Asn	aaa Lys	ata Ile	gtt Val 200	gcg Ala	tta Leu	gct Ala	aat Asn	aaa Lys 205	gaa Glu	tcc Ser	att Ile	624 ·
		: g				ttt Phe		aag					att				672
.gca	210 aa) gä	ata	ata	cct	gtt	215 gat	tca	gaa	cat	agt	220 gct	ata	ttt	caa	tgt	720
225						Val 230					235			-		240	768
						gta Val										Phe	
t ct Sei	aa Ly	a 'S	att Ile	aac Asn 260	Asn	ata Ile	aat Asn	aaa Lys	ata Ile 265	Phe	tta Leu	tgt Cys	Ser	tct Ser 270	Gly	ggt	816
cc: Pre	a tt	t	caa Gln	aat Asr	tta Leu	act Thr	atg Met	Asp	Glu	tta Leu	aaa Lys	aat Asn	Val	Thr	tca Ser	gaa Glu	864
aa	t go	t	275	ı aaç	g cat	cct	aaa	280 a tgg	j aaa	atg	ggt	: aag	285 aaa Lvs	ata	a act	ata : Ile	912
	. 29	90					295	5			٠	300)	٠		cat	960
As 30	p S	er	Ala	a Th	r Me	310	Ası	n Ly:	s Gly	, Lev	319	Va]	l Îl€	e Glu	ı Thi	320	
t t	t t	ta eu	tt! Ph	t ga e As	t gt p Va 32	l Ası	t ta	t aa' r As	t gat n Ası	330	e Gl	a gti u Val	t ata	a gta	a cat 1 Hi: 33	t aaa s Lys 5	1008
					e Hi					u Pho					r Va	a ata l Ile	1056

WO 00/17233 PCT/EP99/07055

4

agt	caa	atg	tat	tat	cca	gat	atg	caa	aţa	 CCC	ata	·tta	tat	·tct	tta	1104
Ser	Gln	Met	Tyr	Tyr	Prò	Asp	Met	Gln	Ile	Pro	Ile	Leu	Tyr	Ser	Leu	
		355	_	_			360					365				
•																
aca	tgg	cct	gat	aga	ata	aaa	aca	aat	tta	aaa	cct	tta	gat	ttg	gct	1152
Thr	Trp	Pro	Asp	Arg	Ile	Lys	Thr	Asn	Leu	Lys	Pro	Leu	Asp	Leu	Ala	
	370		-			375					380				,	•
cag	gtt	tca	act	ctt	aca	ttt	cat	aaa	cct	tct	tta	gaa	cat	ttc	ccg	1200
_				Leu								•				
385					390			_		395					400	•
											• • •					
tat	att	aaa	tta	gct	tat	caa	gca	ggt	ata	aaa	gga	aac	ttt	tat	cca	1248
				Ala												
•		_,_		405	- 2 -				410	-	•			415		
						•										
act	σta	cta	aat	gcg	tca	aat	gaa	ata	qct	aac	aac	tta	ttt	ttq	aat	1296
			•	Ala		•										
			420					425					430			
									,							
aat	aaa	att	aaa	tat	ttt	gat	att	tcc	tct	ata	ata	tcq	caa	gtt	ctt	1344
				Tyr												
	-,-	435	_	<i>54</i> -			440					445				
gaa	tet	ttc	aat	tct	caa	aaq	att	tcq	gaa	aat	agt	gaa	gat	tta	atg	1392
				Ser												
	450					455		- • -			460					
ааσ	caa	att	cta	caa	ata	cat	tct	taa	acc	aaa	gat	aaa	act	acc	gat	1440
				Gln												
465		116	. neu	GI	470		501			475	op	2,0			480	
703					470					-13						
ats	tac					+~+	tas	tan								1467
			•	cat									•			
116	ıyı	. ASN	rys	His		ser	Jer						•			
				485	•											

<210> 2
<211> 488
<212> PRT
. <213> Plasmodium falciparum

														•	
<400 Met 1		Lys	Tyr	Ile 5	Tyr	Ile	Tyr	Phe	Phe 10	Phe	Ile	Thr	.Ile	Thr 15	Ile
Asn	Asp	Leu	Val 20	Ile	Asn	Asn	Thr	Ser 25	Lys	Cys	Val	Ser	Ile 30	Glu	Arg

- Arg Lys Asn Asn Ala Tyr Ile Asn Tyr Gly Ile Gly Tyr Asn Gly Pro
- Asp Asn Lys Ile Thr Lys Ser Arg Arg Cys Lys Arg Ile Lys Leu Cys 50 60
- Lys Lys Asp Leu Ile Asp Ile Gly Ala Ile Lys Lys Pro Ile Asn Val 65 70 75 80
- Ala Ile Phe Gly Ser Thr Gly Ser Ile Gly Thr Asn Ala Leu Asn Ile 85 90 95
- Ile Arg Glu Cys Asn Lys Ile Glu Asn Val Phe Asn Val Lys Ala Leu 100 105 110
- Tyr Val Asn Lys Ser Val Asn Glu Leu Tyr Glu Gln Ala Arg Glu Phe 115 120 125
- Leu Pro Glu Tyr Leu Cys Ile His Asp Lys Ser Val Tyr Glu Glu Leu 130 135 140
- Lys Glu Leu Val Lys Asn Ile Lys Asp Tyr Lys Pro Ile Ile Leu Cys
 145 150 155 160
- Gly Asp Glu Gly Met Lys Glu Ile Cys Ser Ser Asn Ser Ile Asp Lys
 165 170 175
- Ile Val Ile Gly Ile Asp Ser Phe Gln Gly Leu Tyr Ser Thr Met Tyr
 180 185 190
- Ala Ile Met Asn Asn Lys Ile Val Ala Leu Ala Asn Lys Glu Ser Ile 195 200 205
- Val Ser Ala Gly Phe Phe Leu Lys Lys Leu Leu Asn Ile His Lys Asn

6

220

· 215

Ala Lys Ile Ile Pro Val Asp Ser Glu His Ser Ala Ile Phe Gln Cys
235 230 235

Leu Asp Asn Asn Lys Val Leu Lys Thr Lys Cys Leu Gln Asp Asn Phe
245 250 255

Ser Lys Ile Asn Asn Ile Asn Lys Ile Phe Leu Cys Ser Ser Gly Gly 260 265 270

Pro Phe Gln Asn Leu Thr Met Asp Glu Leu Lys Asn Val Thr Ser Glu
275 280 285

Asn Ala Leu Lys His Pro Lys Trp Lys Met Gly Lys Lys Ile Thr Ile 290 295 300

Asp Ser Ala Thr Met Met Asn Lys Gly Leu Glu Val Ile Glu Thr His 305 310 315 320

Phe Leu Phe Asp Val Asp Tyr Asn Asp Ile Glu Val Ile Val His Lys
325 330 335

Glu Cys Ile Ile His Ser Cys Val Glu Phe Ile Asp Lys Ser Val Ile 340 345 350

Ser Gln Met Tyr Tyr Pro Asp Met Gln Ile Pro Ile Leu Tyr Ser Leu 355 360 365

Thr Trp Pro Asp Arg Ile Lys Thr Asn Leu Lys Pro Leu Asp Leu Ala 370 380

Gln Val Ser Thr Leu Thr Phe His Lys Pro Ser Leu Glu His Phe Pro 385 390 400

Cys Ile Lys Leu Ala Tyr Gln Ala Gly Ile Lys Gly Asn Phe Tyr Pro 405 410 415

Thr Val Leu Asn Ala Ser Asn Glu Ile Ala Asn Asn Leu Phe Leu Asn 420 425 430

Asn Lys Ile Lys Tyr Phe Asp Ile Ser Ser Ile Ile Ser Gln Val Leu

PCT/EP99/07055

435

445

Glu Ser Phe Asn Ser Gln Lys Val Ser Glu Asn Ser Glu Asp Leu Met 450 455 460

440

Lys Gln Ile Leu Gln Ile His Ser Trp Ala Lys Asp Lys Ala Thr Asp
465 470 475 480

Ile Tyr Asn Lys His Asn Ser Ser 485

<210> 3

<211> 3872

<212> DNA

<213> Plasmodium falciparum

<220>

<221> CDS

<222> (126)..(3740)

<220>

<221> gene

<222> (1)..(3870)

<220>

<221> mRNA

<222> (1)..(3870)

· <400> 3 .

ggtaatatac gtataatata tatataatat attcttacgt atgtatcatt tatgaatcat 60

aataatattc taaatttacc ttccgttttt gctcgatctt ctcattttcg tttcagcttt 120

tatca atg att ttt aat tat gtg ttt ttt aag aac ttt gta cca gtt gtt 170

Met Ile Phe Asn Tyr Val Phe Phe Lys Asn Phe Val Pro Val Val

1 5 10 15

cta tac att ctc ctt ata ata tat att aac tta aat ggc atg aat aat
Leu Tyr Ile Leu Leu Ile Ile Tyr Ile Asn Leu Asn Gly Met Asn Asn

20

25

30

aaa	aat	caa	ata	aaa	aca	gaa	aaa	att	tat	ata	aag	aaa	ttg	·aat	agg	266
				Lys												
			35					40			•	,	45			
•																
ttg	tca	agg	aaa	aat	tcg	tta	tgt	agt	tct	aaa	aat	aaa	ata	gca	tgc	314
Leu	Ser	Arg	Lys	Asn	Ser	Leu	Cys	Ser	Ser	Lys	Asn	Lys	Ile	Ala	Cys	
		50			·		55					60			٠	
ttg	.ttc	gat	ata	gga	aat	gat	gat	aat	aga	aat	acg	aca	tat	ggc	tat	362
Leu	Phe	Asp	Ile	Gly	Asn	Asp	Asp	Asn	Arg	Asn	Thr	Thr	Tyr	Gly	Tyr	•
	65					· 70					. 75	•				
aat	gtg	aat	gtt	aaa	aat	gat	gat	att	aat	tcc	tta	cta	aaa	aat	aat	410
Asn	Val	Asn	Val	Lys	Asn	Asp	Asp	Ile	Asn	Ser	Leu	Leu	Lys	Asn	Asn	
80					85					90			•		95	
				ttg												458
Tyr	Ser	Asn	Lys	Leu	Tyr	Met	Asp	Lys	Arg	Lys	Asn	Ile	Asn	Asn	Val	
				100					105					110		
				aaa												506
Ile	Ser	Thr	Asn	Lys	Ile	Ser	Gly			Ser	Asn	Ile		Ser	Arg	
			115					120					125			
						•										554
				aat												554
Asn	Gln			Asn					Asn	Lys	GIN		Cys	ren	Thr	
		130)				135					140				
														~~*	.	602
				tat -												002
Gln			Thr	Tyr	Asn			HIS	GIU	GIN		гÀ2	Leu	WIG	ASII	
	145)				150					155					
					_					-	++-	++-		24.2	224	650
				aat												O Ž (
		AST	n Arg	Asn			гÀ2	ASII	Pne		rea	Leu	rne	ITE	175	
160					165				•	170					175	
.	A. • -					- هـ			.	~* *	a t -		222	~~~	225	698
				g aaa												070
Tyr	Phe	e Ası	ı Lei	Lys		met	гàг	ASN			rea	ASN	гÀг		กธก	
				180	•				185					190		
.							<u>-</u>	. .	4	.			4 = ~		tat	746
EEC	: ct1	c tac	c tat	t aaa	о даа	aaa	aaa	נכם	LCa	してて	CTQ	Cat	adq	ycc	Lat	140

Phe Ph	ne 1	fur (Cvs	Lvs	Glu	Lys	Lys	Leu :	Ser	Phe	Leu	His :	Lys	Ala	Tyr	
rne ii			195	2,0	-	_, -		200					205			•
														•		
aaa aa	aa a	aaa	aat	tgc	act	ttt	caa	aat	tat	agt	tta	aaa	aga	aaa	tct	794
Lys Ly	ys :	Lys	Asn	Cys	Thr	Phe	Gln	Asn	Tyr	Ser	Leu	Lys	Arg	Lys	Ser	
		210					215					220				
																·
aat c																842
Asn A	rg	Asp	Ser	His	Lys	Leu	Phe	Ser	Gly	Glu		Asp	Asp	Tyr	Thr	
2	25					230					235					
															ot a	890
aat a	at	aat	gct	tta	tat	gaa	tcc	gaa	aaa	aaa	gaa	tac	att	aca Thr	Len	030
Asn A	sn	Asn	Ala	Leu			Ser	GIU	гÀг	250	GIU	Tyr	116	****	255	•
240					245			•		250						
aat a					aat	aat	aat	aat	aaa	aat	aat	gat	aat	aaa	aat	938
aat a Asn A																
ASII A	7211	Vali	VOII	260					265			•		270		
aat q	gat	aat	aat	gat	: tat	aat	aat	aat	aat	agt	tgt	aat	aạt	tta	gġa	986
Asn I																
			275					280					285			
	_														cca	1034
Glu i	Arg	Sex	. Ası	n Hi	s Ty	Asp) Asn	Tyr	Gly	Gly	/ Asp		Asn	Asr	Pro	
		290)				295	i				300				
												A A.				1082
															a cag	1002
			n As	n As	n As			Asp) ITE	; GI	у Lys 315		Pile	: Lya	s Gln	
	305	•				310	J				313	,				
							.	- 42:	. tai	- 22	a act	· ata	tat	: aa1	t gat	1130
att	aat	ac	c tt	t at	t aa	t at	ı yaı	. gad	ı Tvi	r I.v	s The	· Ile	TV	Gly	y Asp	
	ASI	a Tn	r Pn	ie 11	e As 32		e noi	, 610	y.	33					335	
320					32	J										
~~~	<b>5 +</b> 1	- <b>-</b>	<b>.</b>	, a (1)	a at	a ta	t gaa	a cta	a ta	t at	a qaa	a aga	aat	t at	t cct	1178
															e Pro	•
GIU	11	e ra	י בי		10	3			34.			•		35		
				J-1	- <del>-</del>											
asn	ta	t ta	at a	aa co	ga aa	a ta	t tt	t tc	a ga	a ga	t at	t aaa	a aa	g ag	t gtc	1226
															r Val	
7	- 3	<u>-</u>		55	-	-		36					36			•
			_	_												

	•															
														gct		1274
Leu	Phe	ązA	Ile	Asp	Lys	Tyr	Asn	Asp	Val	Glu	Phe		Lys	Ala	Ile	
		370	٠				375			•	•	380				·
•																
															aat.	1322
Lys	Glu	Glu	Phe	Ile	Asn	Asn	Gly	Val	Tyr	Ile	Asn	Asn	Ile	Asp	Asn	
	385				•	390					395					
aca	tat	tat	aaa	aaa	gaa	aat	att	tta	ata	atg	aaa	aag	ata	tta	cat	1370
Thr	Tyr	Tyr	Lys	Lys	Glu	Asn	Ile	Leu	Ile	Met	Lys	Lys	Ile	Leu	His	
400					405					410	•	•			415	•
											٠.					
tat	ttc	cca	tta	tta	aaa	tta	att	aat	aat	cca	tca	gat	tta	aaa	aag	1418
Tyr	Phe	Pro	Leu	Leu	Lys	Leu	Ile	Asn	Asn	Pro	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	
_				420					425	·				430	•	
tta	aaa	aaa	caa	tat	tta	cct	tta	tta	gca	cat	gaa	tta	aaa	ata	ttt	1466
														Ile		
	•	•	435					440		•			445			
tta	ttt	ttt	att	gta	aat	ata	aca	gga	ggt	cat	ttt	tcc	tct	gtt	tta	1514
														Val		
		450					455			-		460				
agc	tct	tta	a gaa	att	caa	tta	tta	tta	ttg	tat	att	ttt	aat	caa	cca	1562
														Gln		
	465		- 020			470				_	475					
						•										
tat	cat	- 221	r ati	r ata	tat	gat	ata	дда	cat	caa	gca	tat	qta	cat	aag	1610
					_										Lys	
		) Mai	ı val		485		, , , ,	. 017		490					495	
480					403	•				.,,						
								. +++	cta	tca	tta	aga	aat	aaa	aaa	1658
															aaa T.vs	
116	: Lei	u Th	r GI			re.	ı red	Pile			Deu	nry	·	510	Lys	
				500	ט				505	•				310		
								4		<b>-</b>	, ***	<b>.</b>			***	1706
															ttt	
· G1	/ Il	e Se	r Gl	y Ph	e Lei	ı Ası	n Ile			ser Ser	: Ile	туг			Phe	. •
			51	5				520	)				525	)		
										•						
ggg	g gc	t gg	t ca	c ag	t tc	c ac	t tca	a tta	agt	gct	ata	caa	gga	a tat	tat	1754

									T	_						
Gly	Ala	Gly	His	Ser	Ser	Thr	Ser	Leu	Ser	Ala	Ile	Gln	Glÿ	Tyr	Tyr	
_		530					535					540		٠.		
		330														
													•			
gaa	gcc	gag	tgg	caa	gtg	aag	aat	aaa	gaa	aaa	tat	gga	aat	gga	gat	1802
Glu	Ala	Glu	Trp	Gln	Val	Lys	Asn	Lys	Glu	Lys	Tyr	Gly	Asn	Gly	Asp	
								•			555			•		
	545					550					333					
•								•								
ata.	σaa	ata	agt	gat	aac	gca	aat	gtc	acg	aat	aat	gaa	agg	ata	ttt.	1850
					Asn											
TIE	GIU	iie	ser	Asp		VIG	Maii	<b>V</b> 41	****		11011	024	9			
560					565					570				•	575	
•																
<b>C</b> 22	222	002	2+2	cac	aat	gat	aat	aat	att	aac	aat	aat	att	aat	aat	1898
Gln	Lys	Gly	Ile	His	Asn	Asp	Asn	Asn	TTE	Asn	Asn	Asn	TTE	Asn	ASII	
				580					585	•				590		
													•			
•						+	ast.	ata	ata	002	202	<b>722</b>	eat	aca	aat	1946
Asn	Asn	Tyr	Ile	Asn	Pro	Ser	Asp	Val	Val	Gly	Arg	Glu	Asn	Thr	Asn	•
			595	1				600			•		605			•
											•					
								+		~+~	<b>~</b> 3.5		at a	C2C	att	1994
					aat											1004
Val	Pro	Asn	Val	. Arg	Asn	Asp	Asn	His	Asn	Val	Asp	Lys	Val	His	Ile	
		610	)				615					620				
													<b>. .</b>	·		2042
					ggt											2042
Ala	Ile	Ile	Gly	Asp	Gly	Gly	Leu	·Thr	Gly	Gly	Met	Ala	Leu	Glu	Ala	
	625					630					635					
	023	•														
tta	aat	: tat	att	t tca	tto	ttg	aat	tct	aàa	att	tta	att	att	tat	aat	2090
Leu	Asr	יעד ו	c Ile	e Sei	. Phe	Leu	Asn	Ser	Lys	Ile	Leu	Ile	Ile	Tyr	Asn	
										650		·			655	
640					645	•			•	030					<b>433</b>	
																•
gat	aad	g qq	a ca	a qt	tct	tta	сса	aca	aat	gcc	gta	agt	ata	tca	ggt	2138
															Gly	•
vsh	MSI	ı Gı	y GI			. Det										
				66	0				665	•				670		
				*									•			
<u> </u>	. سر و	a .c.c.		a ~~	+ +^+	· 2+:	tea	gat	cat	tta	cat	tat	ttt	att	tct	2186
									•							•
Asn	Are	g Pr	o Il	e Gl	y Sei	: Ile	e Ser	Asp	HIS	Leu	H1S	Tyr	Lue	tsv :	Ser	
			67	5				680					685			
							<b>^</b>				<b>.</b>				בבב ו	2234
															aaa	a, e, J 7
Asn	Il	e Gl	u Al	a As	n Ala	a Gl	y Ası	) Asn	Lys	Leu	ser	Lys	Așr	Ala	Lys	
		69					699					700				•
		<del>0</del> 3	•				400	-				- <b>-</b>				

									1	2				•		
gag	aat	aac	att	ttt	gaa	aat	ttg	aat	tat	gat	tat	att	ggt	gtt	.gtg	2282
Glu	Asn	Asn	Ile	Phe	Glu	Asn	Leu	Asn	Tyr	Asp	Tyr	Iļe	Gly	Val	Val	
	705					710					715			i		
														·		
				202	<b>~</b> ~ ~ ~	~~~	ctc	+++	222	ota	tta	aat	aat	ata	aaa.	2330
	Gly	Asn	Asn	Thr		GIU	Leu	Pne	råa		rea	ASII	ASII	116		
720					725					730					735	
gaa	aat	aaa	tta	aaa	aga	gct	act	gtt	ctt	cat	gta	cgt	aca	aạa	aaa	2378
Glu	Asn	Lys	Leu	Lys	Arg	Ala	Thr	Val	Leu	His	Val	Arg	Thr	Lys	Lys	
				740					745			•		750		
											٠.					
tcg	aat	gat	ttt	ata	aat	tca	aag	agt	сса	ata	agt	ata	ttg	cac	tct	2426
		_		Ile												
		· · · · · ·	755		<b>.</b>			760					765			
			, 55													
_ •						** -	4-	***	ant.	200			++=	224	002	2474
				gag												4474
Ile	Lys	Lys	Asn	Glu	Ile	Phe		Pne	Asp	Thr	Inr		Leu	ASN	GIÄ	
		770					775				•	780				
aat	att	cat	aag	gag	aac	aag	ata	gaa	gaa	gag	aaa	aat	gtg	tct	tca	2522
Asn	Ile	His	Lys	Glu	Asn	Lys	Ile	Glu	Glu	Glu	Lys	Asn	Val	Ser	Ser	
	785					790					795					
						•										
tct	aca	aad	tat	gat	gta	aat	aat	aag	aat	aat	aaa	aat	aat	gat	aat.	2570
															Asn	
800					805		•	-		810				_	815	
000					003		,									
										•			200	++0	202	2618
															aca	2010
Ser	Glu	ı Ile	: Ile	Lys	Tyr	Glu	Asp	Met	Phe	Ser	Lys	Glu	Thr		Thr	
				820	)				825					830		
gat	ata	i tat	aca	a aat	: gaa	atg	tta	aaa	tat	tta	aag	aaa	gat	aga	aat	2666
Asp	Ile	Ty:	r Thi	r Asr	Glu	Met	Leu	Lys	Tyr	Leu	Lys	Lys	Asp	Arg	Asn	
•		•	839					840					845			
<b>-</b> -				<b>.</b> • - ^				,	~~		+^2	uu a	tta	att	222	2714
															aaa	
Ile	e Ile			u Sei	Pro	) Ala	•		. СТУ	GTA	ser			val	Lys	
		85	0				855	•				860	•.			
		•														
att	ag	t ga	g cg	t ta	cca	a aat	aat	gta	tat	gat	gta	ggt	ata	gca	gaa	2762
	_	_	•		٠			•								

13	
Ile Ser Glu Arg Tyr Pro Asn Asn Val Tyr Asp Val Gly Ile Ala	Glu
075	
865 870 875	
•	
caa cat tot gta act tto goa goa got atg goa atg aat aag aas	tta 2810 ·
Gln His Ser Val Thr Phe Ala Ala Ala Met Ala Met Asn Lys Lys	
000	895
880 885 890	033
aaa ata caa tta tgt ata tat tcg acc ttt tta caa aga gca tat	gat 2858
Lys Ile Gln Leu Cys Ile Tyr Ser Thr Phe Leu Gln Arg Ala Tyr	
900 905 910	)
•	
caa att ata cat gat ctt aat tta caa aat ata cct tta aag gti	ata 2906
Gln Ile Ile His Asp Leu Asn Leu Gln Asn Ile Pro Leu Lys Val	riie
915 920 925	
the mean got god got age Cat Cat	a ggt 2954
att gga aga agt gga tta gta gga gag gat ggg gca aca cat car	- 99-
Ile Gly Arg Ser Gly Leu Val Gly Glu Asp Gly Ala Thr His Gli	ı GIY
930 935 940	
	a ata 3002
ata tat gat tta tct tat ctt ggg aca ctt aac aat gca tat at	
Ile Tyr Asp Leu Ser Tyr Leu Gly Thr Leu Asn Asn Ala Tyr Ile	e Ile
055	
945 950 955	
945 950 955 tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc	t tat 3050
945 950 955 tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc	t tat 3050
945 950 955  tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al	t tat 3050
945 950 955 tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc	t tat 3050 a Tyr
945  tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960  955  970	t tat 3050 a Tyr 975
945  tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960  955  970	t tat 3050 a Tyr 975
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile
945  tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960  965  970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As 980  985	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As 980 985 999	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile 0
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As 980 985 99  tta agt gat aag tac atg aaa gga tat ttg aac att cat atg aa Leu Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Ly	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile 0
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As 980 985 999	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile 0
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As 980 985 99  tta agt gat aag tac atg aaa gga tat ttg aac att cat atg aa Leu Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Ly	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile 0
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As 980 985 99  tta agt gat aag tac atg aaa gga tat ttg aac att cat atg aa Leu Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Ly 995 1000 1005	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile 0 a aat 3146 s Asn
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As 980 985 99  tta agt gat aag tac atg aaa gga tat ttg aac att cat atg aa Leu Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Ly 995 1000 1005	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile 0 a aat 3146 s Asn a gat 3194
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As 980 985 99  tta agt gat aag tac atg aaa gga tat ttg aac att cat atg aa Leu Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Ly 995 1000 1005	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile 0 a aat 3146 s Asn a gat 3194
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As 980 985 99  tta agt gat aag tac atg aaa gga tat ttg aac att cat atg aa Leu Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Ly 995 1000 1005	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile 0 a aat 3146 s Asn a gat 3194
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As 980 985 99  tta agt gat aag tac atg aaa gga tat ttg aac att cat atg aa Leu Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Ly 995 1000 1005  gag agc aaa aat atc gat gta aac gtg gat ata aac gat gat gt Glu Ser Lys Asn Ile Asp Val Asn Val Asp Ile Asn Asp Asp Va	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile 0 a aat 3146 s Asn a gat 3194
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As 980 985 99  tta agt gat aag tac atg aaa gga tat ttg aac att cat atg aa Leu Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Ly 995 1000 1005  gag agc aaa aat atc gat gta aac gtg gat ata aac gat gat gt Glu Ser Lys Asn Ile Asp Val Asn Val Asp Ile Asn Asp Asp Val 1010 1015 1020	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile 0 a aat 3146 s Asn a gat 3194 l Asp
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As 980 985 99  tta agt gat aag tac atg aaa gga tat ttg aac att cat atg aa Leu Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Ly 995 1000 1005  gag agc aaa aat atc gat gta aac gtg gat ata aac gat gat gt Glu Ser Lys Asn Ile Asp Val Asn Val Asp Ile Asn Asp Asp Val 1010 1015 1020	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile 0 a aat 3146 s Asn a gat 3194 l Asp
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As 980 985 99  tta agt gat aag tac atg aaa gga tat ttg aac att cat atg aa Leu Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Ly 995 1000 1005  gag agc aaa aat atc gat gta aac gtg gat ata aac gat gat gt Glu Ser Lys Asn Ile Asp Val Asn Val Asp Ile Asn Asp Asp Val 1010 1015 1020	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile 0 a aat 3146 s Asn a gat 3194 l Asp
tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gc Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Al 960 965 970  tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aa Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met As 980 985 99  tta agt gat aag tac atg aaa gga tat ttg aac att cat atg aa Leu Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Ly 995 1000 1005  gag agc aaa aat atc gat gta aac gtg gat ata aac gat gat gt Glu Ser Lys Asn Ile Asp Val Asn Val Asp Ile Asn Asp Asp Val 1010 1015 1020	t tat 3050 a Tyr 975 c ata 3098 n Ile 0 a aat 3146 s Asn a gat 3194 l Asp

att (	gga	aaa	tct	aga	att	att	aaa	atg	gat	aat	gaa	aat	aat	aat	aca	3290
[le	Gly	Lys	Ser	Arg	Ile	Ile	Lys	Met	Asp	neA	Glu	Asn	Asn	Asn	Thr	
1040				1	1045				1	050				•	1055	
•																
aat	gaa	cat	tat	tca	agc	aga	gga	gat	aca	cag	aca	aaa	aaa	aaa	aaa	3338
Aşn	Glu	His	Tyr	Ser	Ser	Arg	Gly	Asp	Thr	Gln	Thr	Lys	Lys	Lys	Lys	
			1	1060				1	1065					1070		
:																
gtt	tgt	atc	ttt	aac	atg	ggt	agt	atg	ctt	ttt	aat	gta	att	aat	gct	3386
Val	Cys	Ile	Phe	Asn	Met	Gly	Ser	Met	Leu	Phe	Asn	Val	Ile	Asn	Ala	
		;	1075				1	1080			•	:	1085	•	•	•
											٠,					
ata	aaa	gaa	att	gaa	aaa	gaa	caa	tat	att	tca	cat	aat	tat	tct	ttt	3434
Ile	Lys	Glu	Ile	Glu	Lys	Glu	Gln	Tyr	Ile	Ser	His	Asn	Tyr	Ser	Phe	
		1090				1	1095				•	1100				
	•															
tca	att	gtt	gat	atg	ata	ttt	tta	aat	cct	tta	gat	aaa	aat	atg	ata	3482
											Asp					
1	.105					1110				•	1115					
gat.	cat	gta	ata	aaa	caa	aat	aaa	cat	caa	tat	tta	att	act	tat	gaa	3530
											Leu					
1120	)				1125					1130					1135	
gat	aat	act	ata	ggt	ggt	ttt	tct	aca	cat	ttc	aat	aat	tat	tta	ata	3578
_										-	Asn					
-		•		1140					1145					1150		
gaa	aat	aat	tat	att	aca	aaa	cat	aac	tta	tat	gtt	cat	aat	att	tat	3626
															Tyr	
	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		1155			-		1160		_			1165			
										,						
tta	tct	aat	. uac	r cca	att	даа	cat	gca	tct	ttt	aag	gat	caa	caa	gaa	3674
															Glu	
DCu	561	1170			, 110		1175					1180	•			
		11/(	,													
<b></b>	- ــــــــــــــــــــــــــــــــــــ			^			244		ata	aa+	202	att	מגק	aat	tat	3722
															tat Tvr	- ·
			s met	. Asţ	o ràs			TEA	AGT	uali	1195		ys		Tyr	
	1185	•				1190					- 1 J J					
							<b>.</b>		<b>+</b>	<b>.</b> . <b>.</b> -	. <del>.</del>	++~+	2222	+		3770
ctt	aaa	a aat	t aat	t cct	t aca	a tga	rgta	ıaga	taaa	tata	ta t	LCCT	addd	L		3,10

Leu Lys Asn Asn Pro Thr 1200 1205

tattttttt ttatacttta atgtgtacaa taaaatatat atctaaatat attttatttg 3830

tacgcttttt tttttttt tttaattgtt atttttgtat at

3872

<210> 4

<211> 1205

<212> PRT

<213> Plasmodium falciparum

<400> 4

Met Ile Phe Asn Tyr Val Phe Phe Lys Asn Phe Val Pro Val Val Leu
1 5 10 15

Tyr Ile Leu Leu Ile Ile Tyr Ile Asn Leu Asn Gly Met Asn Asn Lys
20 25 30

Asn Gln Ile Lys Thr Glu Lys Ile Tyr Ile Lys Lys Leu Asn Arg Leu
35 40 45

Ser Arg Lys Asn Ser Leu Cys Ser Ser Lys Asn Lys Ile Ala Cys Leu 50

Phe Asp Ile Gly Asn Asp Asp Asn Arg Asn Thr Thr Tyr Gly Tyr Asn 65 70 75 80

Val Asn Val Lys Asn Asp Asp Ile Asn Ser Leu Leu Lys Asn Asn Tyr
85 90 95

Ser Asn Lys Leu Tyr Met Asp Lys Arg Lys Asn Ile Asn Asn Val Ile 100 105 110

Ser Thr Asn Lys Ile Ser Gly Ser Ile Ser Asn Ile Cys Ser Arg Asn 115 120 125

Gln Lys Glu Asn Glu Gln Lys Arg Asn Lys Gln Arg Cys Leu Thr Gln 130 135 140

Cys His Thr Tyr Asn Met Ser His Glu Gln Asp Lys Leu Ala Asn Asp

145		150
-----	--	-----

160

Asn Asn Arg Asn Asn Lys Lys Asn Phe Asn Leu Leu Phe Ile Asn Tyr
165 170 175

Phe Asn Leu Lys Arg Met Lys Asn Ser Leu Leu Asn Lys Asp Asn Phe 180 185 190

Phe Tyr Cys Lys Glu Lys Lys Leu Ser Phe Leu His Lys Ala Tyr Lys 195 200 205

Lys Lys Asn Cys Thr Phe Gln Asn Tyr Ser Leu Lys Arg Lys Ser Asn 210 220

Arg Asp Ser His Lys Leu Phe Ser Gly Glu Phe Asp Asp Tyr Thr Asn 225 230 235

Asn Asn Ala Leu Tyr Glu Ser Glu Lys Lys Glu Tyr Ile Thr Leu Asn 245 250 255

Asp Asn Asp Tyr Asn Asn Asn Ser Cys Asn Asn Leu Gly Glu 275 280 285

Arg Ser Asn His Tyr Asp Asn Tyr Gly Gly Asp Asn Asn Asn Pro Cys
290 295 300

Asn Asn Asn Asp Lys Tyr Asp Ile Gly Lys Tyr Phe Lys Gln Ile 305 310 315 320

Asn Thr Phe Ile Asn Ile Asp Glu Tyr Lys Thr Ile Tyr Gly Asp Glu 335

Ile Tyr Lys Glu Ile Tyr Glu Leu Tyr Val Glu Arg Asn Ile Pro Glu 340 345 350

Tyr Tyr Glu Arg Lys Tyr Phe Ser Glu Asp Ile Lys Lys Ser Val Leu 355 360 365

Phe Asp Ile Asp Lys Tyr Asn Asp Val Glu Phe Glu Lys Ala Ile Lys

380

370

Glu Glu Phe Ile Asn Asn Gly Val Tyr Ile Asn Asn Ile Asp Asn Thr
385 390 395 400

375

Tyr Tyr Lys Lys Glu Asn Ile Leu Ile Met Lys Lys Ile Leu His Tyr
405 410 415

Phe Pro Leu Leu Lys Leu Ile Asn Asn Pro Ser Asp Leu Lys Lys Leu 420 425 430

Lys Lys Gln Tyr Leu Pro Leu Leu Ala His Glu Leu Lys Ile Phe Leu 435

Phe Phe Ile Val Asn Ile Thr Gly Gly His Phe Ser Ser Val Leu Ser 450

Ser Leu Glu Ile Gln Leu Leu Leu Leu Tyr Ile Phe Asn Gln Pro Tyr 475 480

Asp Asn Val Ile Tyr Asp Ile Gly His Gln Ala Tyr Val His Lys Ile
485 490 495

Leu Thr Gly Arg Lys Leu Leu Phe Leu Ser Leu Arg Asn Lys Lys Gly 500 505 510

Ile Ser Gly Phe Leu Asn Ile Phe Glu Ser Ile Tyr Asp Lys Phe Gly 515

Ala Gly His Ser Ser Thr Ser Leu Ser Ala Ile Gln Gly Tyr Tyr Glu
530 540

Ala Glu Trp Gln Val Lys Asn Lys Glu Lys Tyr Gly Asn Gly Asp Ile 545 550 550

Glu Ile Ser Asp Asn Ala Asn Val Thr Asn Asn Glu Arg Ile Phe Gln
565 570 575

Lys Gly Ile His Asn Asp Asn Asn Ile Asn Asn Ile Asn Asn Asn 580 590

Asn Tyr Ile Asn Pro Ser Asp Val Val Gly Arg Glu Asn Thr Asn Val

595

605

Pro Asn Val Arg Asn Asp Asn His Asn Val Asp Lys Val His Ile Ala 610 620

600

Ile Ile Gly Asp Gly Gly Leu Thr Gly Gly Met Ala Leu Glu Ala Leu 625 630 635 640

Asn Tyr Ile Ser Phe Leu Asn Ser Lys Ile Leu Ile Ile Tyr Asn Asp
645 650 655

Asn Gly Gln Val Ser Leu Pro Thr Asn Ala Val Ser Ile Ser Gly Asn 660 670

Arg Pro Ile Gly Ser Ile Ser Asp His Leu His Tyr Phe Val Ser Asn 685

Ile Glu Ala Asn Ala Gly Asp Asn Lys Leu Ser Lys Asn Ala Lys Glu 690 695 700

Asn Asn Ile Phe Glu Asn Leu Asn Tyr Asp Tyr Ile Gly Val Val Asn 705 710 715 720

Gly Asn Asn Thr Glu Glu Leu Phe Lys Val Leu Asn Asn Ile Lys Glu
725 730 735

Asn Lys Leu Lys Arg Ala Thr Val Leu His Val Arg Thr Lys Lys Ser 740 745 750

Asn Asp Phe Ile Asn Ser Lys Ser Pro Ile Ser Ile Leu His Ser Ile 755 760 765

Lys Lys Asn Glu Ile Phe Pro Phe Asp Thr Thr Ile Leu Asn Gly Asn 770 775 780

Ile His Lys Glu Asn Lys Ile Glu Glu Glu Lys Asn Val Ser Ser Ser 785 790 795 800

Thr Lys Tyr Asp Val Asn Asn Lys Asn Asn Lys Asn Asn Asn Asp Asn Ser 805

Glu Ile Ile Lys Tyr Glu Asp Met Phe Ser Lys Glu Thr Phe Thr Asp

820

830 .

The Tyr Thr Asn Glu Met Leu Lys Tyr Leu Lys Lys Asp Arg Asn Ile835840Ser Pro Ala Met Leu Gly Gly Ser Gly Leu Val Lys Ile850855

825

Ser Glu Arg Tyr Pro Asn Asn Val Tyr Asp Val Gly Ile Ala Glu Gln 865 870 875 880

His Ser Val Thr Phe Ala Ala Ala Met Ala Met Asn Lys Lys Leu Lys 885 890 895

Ile Gln Leu Cys Ile Tyr Ser Thr Phe Leu Gln Arg Ala Tyr Asp Gln 900 905 910

Ile Ile His Asp Leu Asn Leu Gln Asn Ile Pro Leu Lys Val Ile Ile 915 920 925

Gly Arg Ser Gly Leu Val Gly Glu Asp Gly Ala Thr His Gln Gly Ile 930 935 940

Tyr Asp Leu Ser Tyr Leu Gly Thr Leu Asn Asn Ala Tyr Ile Ile Ser 945 950 955 960

Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Ala Tyr Leu 975

Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met Asn Ile Leu 980 985 990

Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Lys Asn Glu 995 1000 1005

Ser Lys Asn Ile Asp Val Asn Val Asp Ile Asn Asp Asp Val Asp Lys
1010 1020

Tyr Ser Glu Glu Tyr Met Asp Asp Asp Asp Phe Ile Lys Ser Phe Ile 025 1030 1035

Gly Lys Ser Arg Ile Ile Lys Met Asp Asn Glu Asn Asn Asn Thr Asn

1050

1045

1055

Glu His Tyr Ser Ser Arg Gly Asp Thr Gln Thr Lys Lys Lys Lys Val 1060 1065 1070

Cys Ile Phe Asn Met Gly Ser Met Leu Phe Asn Val Ile Asn Ala Ile 1075 1080 1085

Lys Glu Ile Glu Lys Glu Gln Tyr Ile Ser His Asn Tyr Ser Phe Ser 1090 1095 1100

Ile Val Asp Met Ile Phe Leu Asn Pro Leu Asp Lys Asn Met Ile Asp 105 1110 1115 1120

His Val Ile Lys Gln Asn Lys His Gln Tyr Leu Ile Thr Tyr Glu Asp 1125 1130 1135

Asn Thr Ile Gly Gly Phe Ser Thr His Phe Asn Asn Tyr Leu Ile Glu 1140 1145 1150

Asn Asn Tyr Ile Thr Lys His Asn Leu Tyr Val His Asn Ile Tyr Leu 1155 1160 1165

Ser Asn Glu Pro Ile Glu His Ala Ser Phe Lys Asp Gln Gln Glu Val 1170 1175 1180

Val Lys Met Asp Lys Cys Ser Leu Val Asn Arg Ile Lys Asn Tyr Leu 185 1190 1195 1200

Lys Asn Asn Pro Thr 1205

<210> 5

<211> 3147

<212> DNA

<213> Plasmodium falciparum

<220>

<221> CDS

<222> (199)..(2670)

<400	> 5										٠.			•	•	
tttca	attt	tt c	ttta	ccca	c ata	atata	atat	ata	tata	tat	aata :	tata	ta t	ataa	tatta	60
tata	tttg	at a	tatg	attt	a aa	attg	taac	ata	aaaa	aaa	taat	tata	tt a	aata	tgtgt	120
atac	atct	cc a	acat	ataa	a ta	ttat	ttt	'tat	tatt	att	tttt	tttt	tt _. 1	tttt	cataa	180
tgcc	tgaa	ta a	accac											ttt Phe		231
					1	<b>J</b>			5	,		٠,	٠	10	٠	,
			tat													279
Leu	Leu	Phe	Tyr 15	Ser	His	Val	Lys	Ile 20	Lys	Lys	Leu	Phe	25	Lys	11e	
			aac													3 <del>2</del> 7
Ser	Asn	Val	Asn	Ile	Phe	Phe	Ala 35	Glu	Ala	Lys	Lys	Asn 40	Gly	Lys	Lys	
gaa	ttc	ttt	ctt	ttt	tta	cta	aat	ata	aaa	aaa	aat	agc	caa	cag	aaa	375
Glu	Phe 45	Phe	Leu	Phe	Leu	Leu 50	Asn	Ile	Lys	Lys	Asn 55	Ser	Gln	Gln	Lys	
aaa	act	tat	cat	att	acc	aaa	agg	aat	acc	ata	aat	aaa	agt	gat.	ttt	423
			His								Asn					
				•			~~?	000	aat	tet	tca	222	aac	гдаа	tat	471
tta Leu	tat Tyr	Sei	tta Leu	Leu	Asn	gaa Glu	Glu	Gly	Asn	Ser	Ser	Lys	Lys	Glu	Tyr	
				80					85					90		510
aaa Lys	aat Asn	tta Lei	a aaa u Lys	gat Asp	gaa Glu	gaa Glu	aaa Lys	tat Tyr	aat Asn	atc Ile	ata : Ile	Gln	aat Ası	: ata 1 Ile	aaa Lys	519
	•		95					100			•		109			
			t gaa s Glu												gaa [,] Glu	567
гÀ2	ı ıyı	11		ı cys		. Dys	115			1	,	120		- <b>,</b>		
			t gga													615
Va)	Va.	1 11	e Gl	y Ası	n Val	Lys	: Ile	e Gly	/ Gly	Ası	n Asr	ı Lys	Il	e Ala	ille	•

caa act atg gct agc tgt gat aca aga aat gta gaa gaa tgt gta tat Gln Thr Met Ala Ser Cys Asp Thr Arg Asn Val Glu Glu Cys Val Tyr ·155 caa att aga aaa tgt aaa gat ttg ggt gct gac att gta agg ttg act Gln Ile Arg Lys Cys Lys Asp Leu Gly Ala Asp Ile Val Arg Leu Thr 759. gtt caa gga gtt caa gaa gca caa gct agt tat cat att aaa gaa aaa Val Gln Gly Val Gln Glu Ala Gln Ala Ser Tyr His Ile Lys Glu Lys tta tta tct gaa aat gta aat atc cca tta gta gca gat att cat ttt Leu Leu Ser Glu Asn Val Asn Ile Pro Leu Val Ala Asp Ile His Phe aat cct aaa ata gct tta atg gca gct gat gtg ttt gaa aaa att cga Asn Pro Lys Ile Ala Leu Met Ala Ala Asp Val Phe Glu Lys Ile Arg gtg aat cca gga aat tat gtt gat gga aga aaa aaa tgg ata gat aaa Val Asn Pro Gly Asn Tyr Val Asp Gly Arg Lys Lys Trp Ile Asp Lys Val Tyr Lys Thr Lys Glu Glu Phe Asp Glu Gly Lys Leu Phe Ile Lys gaa aaa ttt gta cca tta att gaa aaa tgt aaa aga tta aat aga gca Glu Lys Phe Val Pro Leu Ile Glu Lys Cys Lys Arg Leu Asn Arg Ala ata aga att gga aca aat cat gga tcc ctt tca tct cga gta tta tca Ile Arg Ile Gly Thr Asn His Gly Ser Leu Ser Ser Arg Val Leu Ser 1095. tat tat gga gat aca cca tta ggt atg gta gaa tcg gct ttt gag ttt Tyr Tyr Gly Asp Thr Pro Leu Gly Met Val Glu Ser Ala Phe Glu Phe 

									_							•
tct	gat	tta	tgt	att	gaa	aac	aat	ttt	tac	aat	ctt	gtt	ttt	tct	atg	1143
Ser	Asp	Leu	Cys	Ile	Glu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Asn	Leu	Val	Phe ·	Ser	Met	
300					305					310	•				315	
•			٠		•						•					•
aaa	gct	tct	aat	gct	tat	gtt	atg	ata	caa	tct	tat	aga	tta	tta	gta	1191
								Ile								
				320				. •	325					330		
			•						٠		•		•			
tct	aaa	caa	tat	gaa	aga	aat	atg	atg	ttc	cct	ata	cat	tta	gga	gtt	1239
Ser	Lvs	Gln	Tvr	Glu	Arg	Asn	Met	Met	Phe	Pro	Ile	His	Leu	Gly	Val	
	_,_		335					340					345			•
•												. •				
aca	raa.	ac.	, aaa	ttt	gat	gat	aat	gga	aga	ata	aaa	tct	tat	tta	ggt	1287
								Gly								•
4111		350		, 1110	. 013		355		•		-	360	₹.			
		,	,											٠		
		· + ~ ·	- ++ <i>-</i>	. ++:	. tat	· dat	gat	ata	gga	gat	acc	att	cgt	ata	tcc	1335
								Ile								·
116	365	-	: Let	ı be	y.	370					375		_			
	30:	•				5.0				•						•
				<b>.</b>				tta	act	cct	tat	aaa	aaa	tta	att	1383
tta -	a aca	a ga	a ga	- - -	e tgi	g gae	. Clu	Lou	The	Pro	Cve	Lvs	Lvs	Leu	Val	
		r Gl	u As	p Pro			1 610	Leu		390		<b>D</b> y5	Lyc		395	•
380	)				389	•				330						
						· · ·			221		. aat	+++		gaa	gat	1431
gaa	a aa	t tt	a aa	g aa	a aga	a ata	ם כנו	tat	aa.	. gae	. Dec	Dha	T.ve	Glu	Asp	
Gl	u As:	n Le	u Ly			•	e Pne	yr Tyr			, ASI		Lys	410		
		•		40	0 .				405					410		•
	٠.,												++-	224	+++	1479
								g gat								24.5
As:	n Gl	u Le	u Ly	s As	n .As	n Gl	u Met	t Asp		с гу:	s asi	ı Leu	_		FILE	
			41	.5				420	)				425			•
				•									_	•		1627
ga	a ga	a aa	at ta	at co	ja aa	t tt	t aa	t aat	ata	a aa	a aaa	aga	aat	gta	gaa	1527
G1	u Gl	u As	en Ty	r Ai	g As	n Ph	e Asi	n Asr	ille	e Ly	s Lys	s Arg	, Asn	Val	Glu	
		43	30				43	5				440			•	
							•		• •					· .		
aa	a aa	at a	at aa	at gi	ta tt	a ca	t ga	a gaç	g tg	c ac	t ata	a ggt	aat	gta	gta	· 1575
Ly	s As	sn A	sn A	sn Va	al Le	eu Hi	s Gl	u Glı	ג Cy	s Th	r Ile	e Gly	/ Asn	Val	Val	
		15			,	45					45					
			•											•		•
ac	c at	ta a	aa o	aσ ti	ta da	aa qa	t to	t ct	g ca	a at	t tt	t aaa	a gat	tta	a aat	1623
- ` ጥ}	nr T	le I	3	lu L	eu Gi	lu As	sp Se	r Le	u Gl	n Il	e Ph	e Ly:	s Asp	Let	ı Asn	
- +			,	~			-		,							

. 460

tta gaa gta gat tca aat gga aat ttg aaa aag gga gcc aaa aca act Leu Glu Val Asp Ser Asn Gly Asn Leu Lys Lys Gly Ala Lys Thr Thr gat atg gtt att ata aat gat ttt cat aat ata aca aat tta gga aaa Asp Met Val Ile Ile Asn Asp Phe His Asn Ile Thr Asn Leu Gly Lys aaa act gtg gat aaa tta atg caa gtg gga att aat ata gta gtt caa Lys Thr Val Asp Lys Leu Met Gln Val Gly Ile Asn Ile Val Val Gln tat gaa cca cat aat ata gaa ttt ata gaa aaa atg gaa cca aat aat Tyr Glu Pro His Asn Ile Glu Phe Ile Glu Lys Met Glu Pro Asn Asn gat aat aat aat aat aat aat aat aat ata tta ttt tat gtg gat Asp Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Ile Leu Phe Tyr Val Asp ata aaa aat att atg aac agt tca gaa aaa aat att aaa tta agt aat Ile Lys Asn Ile Met Asn Ser Ser Glu Lys Asn Ile Lys Leu Ser Asn tct aaa gga tat gga tta att tta aac gga aaa gaa gat ata caa acc Ser Lys Gly Tyr Gly Leu Ile Leu Asn Gly Lys Glu Asp Ile Gln Thr ata aaa aaa ata aaa gaa tta aat cgt cgt cct tta ttc att cta tta Ile Lys Lys Ile Lys Glu Leu Asn Arg Arg Pro Leu Phe Ile Leu Leu aaa tca gat aac ata tat gaa cat gta tta ata acc aga aga att aat Lys Ser Asp Asn Ile Tyr Glu His Val Leu Ile Thr Arg Arg Ile Asn gaa ctt tta caa tcc tta aat ata aat ata cct tat ata cat tat gtt Glu Leu Leu Gln Ser Leu Asn Ile Asn Ile Pro Tyr Ile His Tyr Val

										25						· · · ·
gat	att	aat	tca	aac	aat.	tat	gat	gat	ata	tta	gtt	aat	tca	aca	tta	2151
Asn	Tle	Asn	Ser	Asn	Asn	Tyr	Asp	Asp	Ile	Leu	Val	Asn	Ser.	Thr	Leu	
mp				640		•	_		645	•				650		
			•									•	•		•	· ;
•		•							- 4 -		~a=	aat	ott	att	att	2199
tat	gca	gga	agt	tgt	ttg	atg	gat	tta	atg	999	gat	ggt	-	att		
Tyr	Ala	Gly	Ser	Cys	Leu	Met	Asp	Leu	Met	Gly	Asp	Gly	Leu	Ile	vaı	
			655					660					665			
226	ata	act	aat	gat	att	ctt	aca	aat	aaa	aaa	aag	ata	gaa	aca	aaa	2247
aac	yea	a	200	300	Val	T.e.ii	Thr	Asn	Lvs	Lvs	Lvs	Ile	Glú	Thr	Lys	
Asn	val			wah	Val	nea						680			7	
		670					675	·						• •		
											٠.					2205
tat	gat	gaa	aaa	gaa	gaa	gta	gag	gaa	gag	gga	aac	aat	aaa	gat	att ,	2295
Tyr	Asp	Glu	Lys	Glu	Glu	Val	Glu	Glu	Glu	Gly	Asn	Asn	Lys	Asp	Ile	
	685					690					695		•			
														•		
	200		++0		• апа	att	σca	tta	aat	tca	ttt	tta	aca	tta	aat	2343
	aya -			, age	, ago	. y-0	n l a	T.e.ii	Asn	Ser	Phe	Leu	Thr	Leu	Asn	
		re	ı Let	ı ser			, AIG	Dea	7.011	710					715	
700	)				705	•				,10					,,,	•
								•								2201
att	tta	caa	a gat	aca	a aga	a ata	cgt	tta	ttt	aaa	aca	gat	tat	ata	gcc	2391
Ile	Lei	ı Glı	a Ası	o Thi	Arg	, Ile	Arg	, Leu	Phe	Lys	Thr	Asp	Tyr	Ile	Ala	
			•	720					725					730		
+ ~ .			- +~·	t aa	2 201	a act	tta	a ttt	aat	ata	caa	gaa	act	act	aaa	2439
cg.		a CC	t ty	c gg	a ay	_	- 101	, Phe	Agn	Ile	Gln	Glu	Thr	Thr	Lys	
Cys	s Pr	o Se			y Are	g 1111							745			
•			73	5				740	,		•		745	•		
																0407
aa	a at	t at	g aa	a tt	a ac	a gg	g ca	c tta	aaa	ggc	gtt	aaa	att	gca	gtc	2487
Ly	s Il	e Me	t Ly	s Le	u Th	r Gl	y Hi	s Lev	ı Lys	Gly	/ Val	Lys	Ile	e Ala	Val.	
•		75					75					760				•
		·				<b>.</b>	<b>.</b> .+	2 00:		a ato	a aca	a gat	: aca	a cat	ttt	2535.
at	<b>g</b> gg	a tg	t at	t gt	t aa	t gg	t at	a yye	ya.		, ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,	. 90	. 31	uic	ttt.	
Me	t Gl	y Cy	s Il	e Va	l As	n Gl	y II	e GT	y GII	ı me			) AL	a nic	s Phe	
	76	5				77	0				779	•				
									•							
aa	t ta	it at	:t ac	nt ac	it ac	a cc	t aa	a aa	a at	t ga	t tta	a tai	t ta	t ggt	aaa ·	2583
را 23	. m.	y'	ים ו	,:   1, Cr	,- 3°	a Pr	o Lv	s Lv	s Il	e Ası	p Le	ı Ty:	r Ty	r Gly	y Lys	
		yr Vê	41 G	ry se			1	<b>-</b> J	_	79		_	-		795	
78	U				78	, J				• •	-			•		
												<b>.</b>		<b>.</b>		2631
ga	ig ti	ta g	ta g	aa aq	ga aa	at at	a co	t ga	g ga	a ga	a gc	c cg	. ga	_ ddi	a ttg	
G]	lu L	eu V	al G	lu A	rg A	sn Il	le Pi	co Gl	u Gl	u Gl	u Al	a Cy	s As	p Ly:	s Leu	•

WO 00/17233 PCT/EP99/07055

800

₈₀₅ 26

810

ata gaa tta att aaa aaa cat aac aaa tgg aaa gat cca taaattgaat 2680 Ile Glu Leu Ile Lys Lys His Asn Lys Trp Lys Asp Pro 815 820

<210> 6

<211> 824

<212> PRT -

<213> Plasmodium falciparum

<400> '6

Met Ser Tyr Ile Lys Arg Leu Ile Leu Phe Met Leu Leu Phe Tyr Ser

1 10 15

His Val Lys Ile Lys Lys Leu Phe Ile Lys Ile Ser Asn Val Asn Ile 20 25 30

Phe Phe Ala Glu Ala Lys Lys Asn Gly Lys Lys Glu Phe Phe Leu Phe 35

Leu Leu Asn Ile Lys Lys Asn Ser Gln Gln Lys Lys Thr Tyr His Ile
50 55 60

Thr Lys Arg Asn Thr Ile Asn Lys Ser Asp Phe Leu Tyr Ser Leu Leu

70 75

80

Asn Glu Glu Gly Asn Ser Ser Lys Lys Glu Tyr Lys Asn Leu Lys Asp

85

90

95

Glu Glu Lys Tyr Asn Ile Ile Gln Asn Ile Lys Lys Tyr Cys Glu Cys
100 105 110

Thr Lys Lys Tyr Lys Arg Leu Pro Thr Arg Glu Val Val Ile Gly Asn 115 120 125

Val Lys Ile Gly Gly Asn Asn Lys Ile Ala Ile Gln Thr Met Ala Ser 130 135 140

Cys Asp Thr Arg Asn Val Glu Glu Cys Val Tyr Gln Ile Arg Lys Cys
145 150 155 160

Lys Asp Leu Gly Ala Asp Ile Val Arg Leu Thr Val Gln Gly Val Gln 175

Glu Ala Gln Ala Ser Tyr His Ile Lys Glu Lys Leu Leu Ser Glu Asn 180 185 190

Val Asn Ile Pro Leu Val Ala Asp Ile His Phe Asn Pro Lys Ile Ala 195 200 205

Leu Met Ala Ala Asp Val Phe Glu Lys Ile Arg Val Asn Pro Gly Asn 210 215 220

Tyr Val Asp Gly Arg Lys Lys Trp Ile Asp Lys Val Tyr Lys Thr Lys 235 240

Glu Glu Phe Asp Glu Gly Lys Leu Phe Ile Lys Glu Lys Phe Val Pro 245 250 255

Leu Ile Glu Lys Cys Lys Arg Leu Asn Arg Ala Ile Arg Ile Gly Thr 260 265 270

Asn His Gly Ser Leu Ser Ser Arg Val Leu Ser Tyr Tyr Gly Asp Thr 275 280 285

Pro Leu Gly Met Val Glu Ser Ala Phe Glu Phe Ser Asp Leu Cys Ile

Glu Asn Asn Phe Tyr Asn Leu Val Phe Ser Met Lys Ala Ser Asn Ala 

.

Tyr Val Met Ile Gln Ser Tyr Arg Leu Leu Val Ser Lys Gln Tyr Glu 

Arg Asn Met Met Phe Pro Ile His Leu Gly Val Thr Glu Ala Gly Phe 

Gly Asp Asn Gly Arg Ile Lys Ser Tyr Leu Gly Ile Gly Ser Leu Leu 

Tyr Asp Gly Ile Gly Asp Thr Ile Arg Ile Ser Leu Thr Glu Asp Pro 

Trp Glu Glu Leu Thr Pro Cys Lys Lys Leu Val Glu Asn Leu Lys Lys 

Arg Ile Phe Tyr Asn Glu Asn Phe Lys Glu Asp Asn Glu Leu Lys Asn 

Asn Glu Met Asp Thr Lys Asn Leu Leu Asn Phe Glu Glu Asn Tyr Arg 

Asn Phe Asn Asn Ile Lys Lys Arg Asn Val Glu Lys Asn Asn Val 

Leu His Glu Glu Cys Thr Ile Gly Asn Val Val Thr Ile Lys Glu Leu 

Glu Asp Ser Leu Gln Ile Phe Lys Asp Leu Asn Leu Glu Val Asp Ser 

Asn Gly Asn Leu Lys Lys Gly Ala Lys Thr Thr Asp Met Val Ile Ile 495. 

Asn Asp Phe His Asn Ile Thr Asn Leu Gly Lys Lys Thr Val Asp Lys 

Leu Met Gln Val Gly Ile Asn Ile Val Val Gln Tyr Glu Pro His Asn

Ile Glu Phe Ile Glu Lys Met Glu Pro Asn Ile Leu Phe Tyr Val Asp Ile Lys Asn Ile Met Asn Ser Ser Glu Lys Asn Ile Lys Leu Ser Asn Ser Lys Gly Tyr Gly Leu Ile Leu Asn Gly Lys Glu Asp Ile Gln Thr Ile Lys Lys Ile Lys Glu Leu Asn Arg Arg Pro Leu Phe Ile Leu Leu Lys Ser Asp Asn Ile Tyr Glu His Val Leu Ile Thr Arg Arg Ile Asn Glu Leu Leu Gln Ser . 620 Leu Asn Ile Asn Ile Pro Tyr Ile His Tyr Val Asp Ile Asn Ser Asn Asn Tyr Asp Asp Ile Leu Val Asn Ser Thr Leu Tyr Ala Gly Ser Cys Leu Met Asp Leu Met Gly Asp Gly Leu Ile Val Asn Val Thr Asn Asp Val Leu Thr Asn Lys Lys Ile Glu Thr Lys Tyr Asp Glu Lys Glu Glu Val Glu Glu Gly Asn Asn Lys Asp Ile His Arg Leu Leu Ser Arg Val Ala Leu Asn Ser Phe Leu Thr Leu Asn Ile Leu Gln Asp Thr · 715 Arg Ile Arg Leu Phe Lys Thr Asp Tyr Ile Ala Cys Pro Ser Cys Gly Arg Thr Leu Phe Asn Ile Gln Glu Thr Thr Lys Lys Ile Met Lys Leu

#### WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation	7	:
------------------------------------------	---	---

C12N 9/90, 9/10, 9/12, C12Q 1/48

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

WO 00/17233

(43) Internationales

Veröffentlichungsdatum:

30. März 2000 (30.03.00)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP99/07055

**A3** 

(22) Internationales Anmeldedatum:

22. September 1999 (22.09.99)

(30) Prioritätsdaten:

198 43 279.8 199 23 567.8 22. September 1998 (22.09.98) DE

21. Mai 1999 (21.05.99) DB

(71)(72) Anmelder und Erfinder: JOMAA, Hassan [DE/DE]; Breslauer Strasse 24, D-35398 Gießen (DE).

(74) Anwälte: PANTEN, Kirsten usw.; Reichel und Reichel, Parkstrasse 13, D-60322 Frankfurt am Main (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DK, DM, EE, ES. FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenbe-25. Mai 2000 (25.05.00) richts:

- (54) Title: GENES OF THE 1-DESOXY-D-XYLULOSE BIOSYNTHETIC PATHWAY
- (54) Bezeichnung: GENE DES 1-DESOXY-D-XYLULOSE-BIOSYNTHESEWEGS

#### (57) Abstract

The invention relates to the 1-desoxy- D-xylulose- 5-phosphate reductoisomerase gene, the 1-desoxy- D-xylulose- 5-phosphatesynthase gene and the gcpE gene of the 1-desoxy- D-xylulose biosynthetic pathway and to their use for transforming vectors, host organisms and plants and for determining substances that inhibit this biosynthetic pathway.

#### (57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft das 1-Desoxy- D-xylulose- 5-phosphatreduktoisomerase -Gen, das 1-Desoxy- D-xylulose-5-phosphat- Synthase- Gen und das gepE-Gen des 1-Desoxy- D-xylulose- Biosynthesewegs und ihre Verwendung zur Transformation von Vektoren, Wirtsorganismen und Pflanzen und zur Bestimmung von Stoffen, die diesen Biosyntheseweg inhibieren.

#### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finaland	LT	Litaven	SK	Slowskei
AT	Osterreich	FR	Frankreich	LÜ	Luxemburg	SN	Scnegal
AU .	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swaziland
AZ	Ascrbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Techad
BA	Bosnien-Herzegowina	GB	Georgien	MD	Republik Moldan	TG	Togo
BB	Barbados	. GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgies	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland		Republik Mazedonien	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	iL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island .	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		Amerika
		16	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
OF .	Zentralafrikanische Republik	KE	Kenia -	NL	Niederlande	VN	Vietnam
œ	Kongo Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawica
CH	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik	NZ	Neusceland	zw	Zimbabwe
a	7	Kr	Korea	PL	Polen		
СМ	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
C.	China	KZ	Kasachstan	RO	Ruminico		,
QU CU	Kuba	ic	St. Locis	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	u	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland		Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dânemark Setend	LK	_	SG	Singapur		
EE	Estland	LR	Liberia	<b>3</b> 3			

A CLASSIFI IPC 7	CATION OF BUBLECT MATTER C12N9/90 C12N9/10 C12N9/12	C1201/48	
According to	International Patent Classification (IPC) or to both national disselfication	and IPC	
B. FIELDS 8			
Mrimum door IPC 7	commentation secretical (classification system followed by classification a C12N C12Q		· .
	on searched other than minimum documentation to the extent that such	·	rched
Bectroric de	ta base consulted during the International search (name of data base)	and, across biscocor, someri cuitis escal.	
	• •	· ·	
C. DOCUM	ENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with Indication, where appropriate, of the relevant	ent pe <del>sseges</del>	Relevent to claim No.
E,L	WO 99 52938 A (HASSAN JOMAA) 21 October 1999 (1999-10-21)		1,2,4, 8-12, 16-18
	see SeqID's; Priority of inv. sha W09952938 and PCTEP99/07055 and pr DE19816196.4, DE19825585.3, DE198280 9831637.2, DE19831639.9 or DE198316 be invalid; A.4C(4) PC.	resent in 197.1,DE1	•
		<b>/</b>	
			·
X Fu	ether documents are listed in the continuation of box C.	Peters family members are listed	I in ennex.
"A" docus con "E" enrike filing "L" docus white citat	ment defining the general state of the last which is not eldered to be of particular relevance or document but published on or after the international global or ment which may throw doubts on priority claim(s) or on the cited to establish the publication date of another tion or other special resson (as specified)	"I" later document published after the into or priority date and not in conflict with cited to understand the principle or the invention. "X" document of particular relevance; the carnot be considered novel or carnot involve an inventive step when the dispersion of particular relevance; the carnot be considered to involve an inventive and inve	ctaimed invention at be considered to coment is taken slame ctaimed invention aventive step when the
*O* door	ement referring to an oral disclosure, use, exhibition or er means are published prior to the international filing date but	document is combined with one or ments, such combination being obvious in the sat.  "&" document member of the same patern	ous to a person sided
	r than the priority date claimed he actual completion of the international search	Date of mailing of the International ex	
	7 March 2000	23/03/2000	
Norne er	nd melting address of the ISA  European Patent Office, P.B. 5818 Patentiasn 2	Authorized officer	
	NL — 2280 HV Rijewljk Tel. (+31—70) 340—2040, Tx. 31 661 epo nl. Fax: (+31—70) 340—3016	Hoekstra, S	

(Continue	cion) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
estegory *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant possages	Relevant to claim No.
	PUTRA ET AL: "Incorporation of	15
	'2,3-'13!C2!- and '2,4-'13!C2!-D-1-Deoxyxylulose into ubiquinone of Escherichia coli via the	
	Mevalonate-Independent pathway for Isoprenoid Biosynthesis	, · .
,	TETRAHEDRON LETTERS, NL, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM,	
	vol. 39, no. 39, 1998, pages 23-26-26, XP002116676 ISSN: 0040-4039	
	figure 1	15
	KUZUYAMA ET AL: "Direct formation of 2-C-Methyl-D-Erythritol 4-phosphate from 1-Deoxy-D-Xylulose 5-phosphate	
	Reductoisomerase, a new enzyme in the non-mevalonate pathway to isopentenyl diphosphate"	
	TETRAHEDRON LETTERS, NL, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS. AMSTERDAM,	
	vol. 39, no. 39, 1998, pages 4509-4512-44512, XP002116675 ISSN: 0040-4039 figure 1	
P,X	SCHWENDER, J. ET AL.: "Cloning and heterologous expression of a cDNA encoding 1-deoxy-d-xylulose-5-phosphate reductoisomerase of Arabidopsis thaliana" FEBS LETTERS.	1,9-12
	vol. 455, July 1999 (1999-07), pages 140-144, XP002132424 the whole document	
P,A	DE 197 52 700 A (HOECHST SCHERING AGREVO GMBH) 2 June 1999 (1999-06-02) the whole document	1-12
A	LANGE ET AL: "A family of transketolases that directs isoprenoid biosynthesis via a mevalonate-independent pathway"	1-18
	FASEB JOURNAL, US, FED. OF AMERICAN SOC. FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY, BETHESDA, MD, vol. 95, March 1998 (1998-03), pages 2100-2104, XP002116672 ISSN: 0892-6638 the whole document	
P;X	EMINV DATABASE: "AC: EF111813" PLASMODIUM FALCIPARUM 1-DEOXY-D-XYLULOSE 5-PHOSPHATE REDUCTOISOMERASE,	1,9-12
	11 January 1999 (1999-01-11), XP002132425 see : Scores	
	_/_	

PCT/EP 99/07055

	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	PC1/EF 99/0/033
C.(Continue	tion) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	Relevant to dain No.
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
P , X	TREMBL DATABASE: "AC: 096693" PLASMODIUM FALCIPARUM 1-DEOXY-D-XYLULOSE 5-PHOSPHATE REDUCTOISOMERASE, 1 May 1999 (1999-05-01), XP002132426 see: Scores	1,9-12
X	SPRENGER ET AL: "Identification of a thiamin-dependent synthase in Escherichia coli required for the formation of the 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate precursor to isoprenoids, thiamin, and pyridoxol" FASEB JOURNAL, US, FED. OF AMERICAN SOC. FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY, BETHESDA, MD, vol. 94, November 1997 (1997-11), pages 12857-12862, XP002116674 ISSN: 0892-6638 figure 2 figure 1	2,9-12
^		<b>\</b>
P,X	TREMBL DATABASE: "AC: QZ8HO" CHLAMYDIA PNEUMONIAE GCPE PROTEIN,	3,9-12
•	1 May 1999 (1999-05-01), XP002132427 see : scores	
•		

Form PCT/ISA/210 (combnued on or second sheet) (Ady 1992)

information on patent tamily members

Patent document cited in search report	Publication date	Petent family member(s)	Publication date
WO 9952938 A	21-10-1999	DE 19825585 A DE 19828097 A DE 19831637 A AU 4120899 A AU 4481699 A WO 9952515 A WO 9966875 A WO 0004031 A WO 0003699 A	21-10-1999 30-12-1999 27-01-2000 01-11-1999 01-11-1999 21-10-1999 29-12-1999 27-01-2000 27-01-2000
DE 19752700 A	02-06-1999	DE 29800547 U JP 11169186 A	08-04-19 <b>99</b> 29-06-19 <b>99</b>

### INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

	THE PER ANNER PURPOSOFORMET AND SE		
IPK 7	C12N9/90 C12N9/10 C12N9/12	C12Q1/48	
Nach der Inte	ernationalen Patentidaasifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifil	kation und der IPK	
	•		
	chierte Gebiete er Mindestprütstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)	·	·
IPK 7	C12N C12Q		
Deshambled	te aber nicht zum Mindestprütstoft gehörende Veröffentlichungen, sowei	t dese unter die recherchierten Gebiete f	alen
	•		·
Während de	r Internetionalen Recherche konauttierte elektronische Daterbank (Nam	e der Datenbank und evil. venwendete 8	uchbegriffe).
	•		
	. ••		
C. ALS WE	SENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, sowelt erforderlich unter Angabe d	ler in Betracht kommenden Telle	Betr. Anspruch Nr.
	We so Foods A (WASSAN JONAA)		1,2,4,
E,L	WO 99 52938 A (HASSAN JOMAA) 21. Oktober 1999 (1999-10-21)		8-12,
			16-18
	Siehe SeqID's; Priority of inv. sha W09952938 and PCTEP99/07055 and pr	red by	•
	DE19816196.4, DE19825585.3, DE198280	97.1.DE1	
	9831637.2.DE19831639.9 or DE198316	38.0 may	
1	be invalid; A.4C(4) PC.	·	
	-/	/	
		•	·
		•	
1			
	· ·		
	eltere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C 214 tnehmen	X Siehe Anhang Patentfamilie	
	the time flowers and a flower and a second a	T Spätere Veröffentlichung, die nach der oder dem Prioritätsdatum veröffentlich	A MOLDEN IN THE HIT ACL
abe	fentlichung, die den aligemeinen Stand der Technik definiert. r nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist	Armeldung nicht kollidiert, sondem ni Erfindung zugrundellegenden Prinzipi	a odet det ihr zugrundellegenden
Алл	ee Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen neldedatum veröffentlicht worden ist	Theorie angegeben MR	neuror de beansoruchte Erfindung
	Hentilchung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifeihaft er-	kann eilein aufgrund dieser Veronerm erfinderlacher Tätigkeit beruhend betr	achtel werden
sol	eren im Recherchenbericht genannten Veröttentlichung belegt werden oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie	kann nicht als auf erfinderlacher I aug	t einer oder mehreren anderen
10° Verð	geführt) Hentichung, die eich auf eine mündliche Offenbarung.	Veröffentlichungen dieser Kategorie in diese Verbindung für einen Fachman	U AGUSTOR III Represent and and
<b>™</b> Verò	Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht Rentlichung, die vor dem Internationalen Armeidedatum, über nach In beenspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist	"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselbe	n Palentiamille let
	es Abschlusses der Internationalen Recherche	Abeendedatum des Internationalen R	echerchenberichts
	7. März 20 <b>00</b>	23/03/2000	
Name un	nd Postanachrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bedlensteter	
1	Europélechee Patentarrit, P.B. 5818 Patentiann 2 NL - 2280 HV Rijswijk T.J. (191, 70) 940, 2040, Tr. 31,651 enomi.	Markakaa A	
1 .	Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epont. Fax: (+31-70) 340-3016	Hoekstra, S	

### INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

etegorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angebe der in Betracht kommenden Telle	Betr. Anspruch Nr.
	DUTDA ET AL. Almontomotion of	15
	PUTRA ET AL: "Incorporation of	
	'2,3-'13!C2!- and	
	'2,4-'13!C2!-D-1-Deoxyxylulose into	
	ubiquinone of Escherichia coli via the	· ·
•	Mevalonate-Independent pathway for	•
	Isoprenoid Biosynthesis*	· ·
	TETRAHEDRON LETTERS, NL, ELSEVIER SCIENCE	·
	I PURITSHERS AMSTERDAM.	1
	Bd. 39, Nr. 39, 1998, Seiten 23-26-26,	
	XP0021166 <b>76</b>	
	ISSN: 0040-4039	
	Abbildung 1	
		1
¥	KUZUYAMA ET AL: "Direct formation of	15
^	2-C-Methyl-D-Erythritol 4-phosphate from	
, •	1-Deoxy-D-Xylulose 5-phosphate	
	Reductoisomerase, a new enzyme in the	· ·
	non-mevalonate pathway to isopentenyl	
	diphosphate"	
	TETRAHEDRON LETTERS, NL, ELSEVIER SCIENCE	
	DUDITOURDS AMSTERDAM	
	PUBLISHERS, AMSTERDAM,	
	Bd. 39, Nr. 39, 1998, Seiten	
	4509-4512-44512, XP002116675	
	ISSN: 0040-4039	i
	Abbildung 1	
	and and	1.9-12
P,X	SCHWENDER, J. ET AL.: "Cloning and	
	heterologous expression of a cDNA encoding	
	1-deoxy-d-xylulose-5-phosphate	
	reductoisomerase of Arabidopsis thaliana"	
	FEBS LETTERS,	ľ
	Bd. 455, Juli 1999 (1999-07), Seiten	
	140-144, XP002132424	·
	das ganze Dokume <b>nt</b>	
		1-12
P,A	DE 197 52 700 A (HOECHST SCHERING AGREVO	1-12
1 .	GMBH) 2. Juni 1999 (1999-06-02)	
	das ganze Dokument	
[		
A	LANGE ET AL: "A family of transketolases	1-18
l''	that directs isoprenoid biosynthesis via a	
1	mevalonate-independent pathway"	1
1	FASEB JOURNAL, US, FED. OF AMERICAN SOC. FOR	1 ·
	EXPERIMENTAL BIOLOGY, BETHESDA, MD,	i i
	Bd. 95, März 1998 (1998-03), Seiten	į
1	2100-2104, XP002116672	
1	ISSN: 0892-6638	
	das ganze Dokument	
	CMTHU DATABACE, MAC. EE111012*	1,9-12
P,X	EMINY DATABASE: "AC: EF111813"	
1	PLASMODIUM FALCIPARUM 1-DEOXY-D-XYLULOSE	
1	5-PHOSPHATE REDUCTOISOMERASE,	.]
1	11. Januar 1999 (1999-01-11), XP002132425	ļ
	Siehe: Scores	1
1		
•	<b>-/</b>	
	<b>-</b> /-	

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT.

PCT/EP 99/07055

tegorie*	Ing) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN  Bezeichnung der Veröttentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Telle	Betz. Anapruch Nt.
<b>, X</b>	TREMBL DATABASE: "AC: 096693" PLASMODIUM FALCIPARUM 1-DEOXY-D-XYLULOSE 5-PHOSPHATE REDUCTOISOMERASE, 1. Mai 1999 (1999-05-01), XP002132426 Siehe: Scores	1,9-12
	SPRENGER ET AL: "Identification of a thiamin-dependent synthase in Escherichia coli required for the formation of the 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate precursor to isoprenoids, thiamin, and pyridoxol" FASEB JOURNAL, US, FED. OF AMERICAN SOC. FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY, BETHESDA, MD, Bd. 94, November 1997 (1997-11), Seiten 12857-12862, XP002116674 ISSN: 0892-6638 Abbildung 2	2,9-12
A	Abbildung 1	15
P,X	TREMBL DATABASE: "AC: QZ8HO" CHLAMYDIA PNEUMONIAE GCPE PROTEIN, 1. Mai 1999 (1999-05-01), XP002132427 Siehe: scores	3,9-12
		·
		••
	_	
1		
ł		

Formblett PCT/ISA/210 (Forturbung von Blett 2) (Auf 1982)

### INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angeben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patenthamilie gehören

Im Recherchenbericht; angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	. Mitgfled(er) der Patentlamille	Datum der Veröffentlichung
WO 9952938 A	21-10-1999	DE 19825585 A DE 19828097 A DE 19831637 A AU 4120899 A AU 4481699 A WO 9952515 A WO 9966875 A WO 0004031 A WO 0003699 A	21-10-1999 30-12-1999 27-01-2000 01-11-1999 01-11-1999 21-10-1999 29-12-1999 27-01-2000 27-01-2000
DE 19752700 A	02-06-1999	DE 29800547 U JP 11169186 A	08-04-19 <b>99</b> 29-06-19 <b>99</b>